

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004 年 4 月 29 日 (29.04.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/036284 A1(51) 国際特許分類:
G01N 37/00, C12N 15/09CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県 川口市
本町 4-1-8 Saitama (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/011935

(72) 発明者; および

(22) 国際出願日: 2003 年 9 月 18 日 (18.09.2003)

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 林 照剛
(HAYASHI, Terutake) [JP/JP]; 〒316-0036 茨城県 日
立市 鮎川町 6-9-A 301 Ibaraki (JP). 前川 克廣
(MAEKAWA, Katsuhiko) [JP/JP]; 〒312-0001 茨城県
ひたちなか市 佐和 3064-1 Ibaraki (JP). 柴田 隆
行 (SHIBATA, Takayuki) [JP/JP]; 〒316-0036 茨城県 日
立市 鮎川町 6-9-B 405 Ibaraki (JP).

(25) 国際出願の言語: 日本語

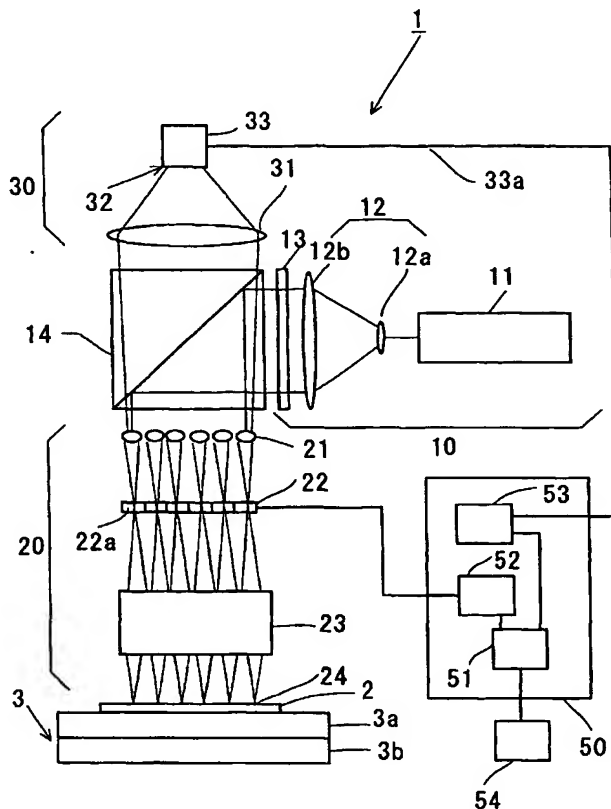
(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2002-287422 2002 年 9 月 30 日 (30.09.2002) JP(74) 代理人: 平山 一幸 (HIRAYAMA, Kazuyuki); 〒160-
0022 東京都 新宿区 新宿 2-3-10 新宿御苑ビル
6 階 Tokyo (JP).

[続葉有]

(54) Title: COFOCAL MICROSCOPE, FLUORESCENCE MEASURING METHOD AND POLARIZED LIGHT MEASURING
METHOD USING COFOCAL MICROSCOPE

(54) 発明の名称: 共焦点顕微鏡、共焦点顕微鏡を用いた蛍光測定方法及び偏光測定方法



(57) Abstract: A cofocal microscope, and a fluorescence measuring method and a polarized light measuring method using it, the microscope comprising an incident optical system (10, 10') for beaming a polarized light from a lighting light source (11) into an object of observation (2) via a matrix type liquid crystal element (22) having a micro-lens array (21) disposed thereon and an object lens (23), a detection optical system (30, 30') for detecting a reflection light from the object of observation or a fluorescence, and a liquid crystal control unit (52) for controlling the liquid crystal element (22), wherein each micro-lens-related light passed through the micro-lens array (21) is allowed to pass through each pixel (22a) of the liquid crystal element (22) and then into an object lens (23) that forms a plurality of focal points (24) on the object of observation (2), and the polarizing directions of lights passing through respective pixels of the liquid crystal element (22) are controlled by the liquid crystal control unit (52) so as to be orthogonal to one another.

(57) 要約: 共焦点顕微鏡及びそれを用いた蛍光測定方法及び偏光測定方法であって、照明光源 (11) から偏光を、マイクロレンズアレイ (21) を上部に配置したマトリクス式液晶素子 (22) 及び対物レンズ (23) を介して被観察物 (2) へ入射する入射光学系 (10, 10') と、被観察物からの反射光又は蛍光を検出する検出光学系 (30, 30') と、液晶素子 (22) を制御する液晶制御部 (52) とを備え、マイクロレンズアレイ (21) を透過したマイクロレンズ毎の光を、液晶素子 (22) の各画素 (22a) 毎に透過させ、対物レンズ (23) にて被観察物 (2) に複数の焦点 (24) を結ぶと共に、液晶素子 (22) の各画素を透過する光の偏

光方向を液晶制御部 (52) を用い各画素を透過する光の偏光方向を互いに

[続葉有]

WO 2004/036284 A1



(81) 指定国 (国内): CN, JP, KR, US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR).

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

添付公開書類:

- 国際調査報告書
- 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。

明 細 書

共焦点顕微鏡、共焦点顕微鏡を用いた蛍光測定方法及び偏光測定方法

技術分野

本発明は、生体組織や生体組織からの蛍光観察などに使用される共焦点顕微鏡に関し、高感度で、横方向、深さ方向の分解能に優れ、広領域の動的な観察が可能である、液晶を用いた共焦点顕微鏡及び液晶を用いた共焦点顕微鏡によるマイクロアレイ基板からの蛍光測定方法並びに液晶を用いた共焦点顕微鏡による偏光測定方法に関するものである。

背景技術

従来、生命科学の研究分野における生体組織や蛍光試薬を添加した生体組織試料からの蛍光発光の観察に共焦点顕微鏡が使用されている。共焦点顕微鏡は、深さ方向に高い分解能を有することから、生体試料の三次元観察などに主に利用されてきた。

図 1 9 に共焦点顕微鏡の従来例 1 を示す（例えば、非特許文献 1 参照。）。レーザ光 1 6 1 は、ビームスプリッター 1 6 2 で反射され、対物レンズ 1 6 3 で試料 1 6 4 に結像される。そして、試料 1 6 4 で反射した反射光、または、蛍光 1 6 6 がビームスプリッター 1 6 2 を透過してミラー 1 6 7 とレンズ 1 6 9 を通過して検出器 1 7 1 に入る。ここで、検出器 1 7 1 の前にピンホール 1 7 0 を置くことによって、焦点面以外から発生する光束を除去し明確な像を得ることができる。試料 1 6 4 の全体を見るためには、試料 1 6 4 を載置しているステージを平面内で移動、即ち走査 1 7 2 を行うことによって観察するようにしている。

共焦点顕微鏡において、試料の移動を行わないで高速で走査する方法が 1 8 8 4 年に Paul Nipkow が発明したニポウディスク方式である。図 2 0 は、従来例 2 のニポウディスクを用いた多重共焦点顕微鏡の走査方式の原理を示す図である（例えば、下記特許文献 1、非特許文献 2 参照）。

多重共焦点顕微鏡 1 8 0 では、レーザ光 1 8 1 が、共焦点用走査装置 1 9 0 に

入射する。共焦点用走査装置 190 は、2 枚の円板で構成された集光ディスク 191 及びピンホールディスク 192 と、ドラム 194 と、ビームスプリッター 182 と、から構成されている。集光ディスク 191 及びピンホールディスク 192 はドラム 194 に保持され、モーター 195 により回転している。

ここで、レーザ光 181 は、集光ディスク 191 に設けられた多数のピンホール 193 を通過する。この通過した光は、ビームスプリッター 182 を介してレンズ 183 により被観察物 184 に複数の焦点を形成する。そして、被観察物 184 からの反射光は、ビームスプリッター 182 を介して光路が入射方向に対して 90° 曲げられて、レンズ 185 によりカメラ 186 に結像される。これにより光の利用効率を向上させ、複数の焦点同時検出による多重共焦点顕微鏡を実現している。

図 21 は従来例 3 の多重共焦点顕微鏡の構成を示す図である（例えば、下記特許文献 2 参照）。多重共焦点顕微鏡 200 は、図 18 の従来例 1 と同様な光学系を有しているが、入射光の光路に液晶セル 203 が配設されている点が異なる。入射光 201 が、ビームスプリッター 202 を通過し、液晶セル 203 を介して対物レンズ 204 で試料 205 に集光される。試料 205 からの反射光は、ビームスプリッター 202 を介してレンズ 207 を通過して、反射光 208 がカメラ 209 に結像される。

ここで、入射光 201 は、液晶セルの 1 画素である開口部 203 a を通り、試料 205 の 210 a の点に結像する。次に液晶セルの他の画素である 203 b を開口すると、入射光は、試料 205 の 210 b の点に結像する。このように、試料 205 の走査は、液晶セルの平面にある画素を順番に、入射光 201 をオンオフさせる所謂 X-Y 走査により行われる。

下記特許文献 3 及び 4 では、入射光源をマルチビームとしたマルチスポットアレイを有し、照射した励起光により発生する蛍光を共焦点検出する DNA 検査装置が開示されている。

特許文献：

特開平 5-60980 号公報

特開平 5-210051 号公報

特開 2 0 0 1 - 1 0 8 6 8 4 号公報

特開 2 0 0 1 - 2 0 8 6 8 8 号公報

非特許文献：

Mark Schena 著，加藤郁之進 監訳「DNA マイクロアレイ基板」，丸善株式会社，2000年，p. 19-45

川村信一郎 他 3 名，「共焦点顕微鏡レーザ顕微鏡スキャナと CCD カメラ」横河技報，2001年，Vol. 45，No. 2，p. 112-114

ところで、従来例 1 の試料走査型の共焦点顕微鏡は、単焦点での検出を行うため、広領域を観察するには走査を行う必要があり、蛍光などの実時間観察が困難である。

従来例 2 の多重共焦点顕微鏡は、多数の点を同時に検出することから、隣接する焦点に入射する光同士が干渉する。これを、クロストークと呼んでいる。この干渉によって生じる入射光強度分布が、明暗の模様である干渉縞を生じさせる。これが原因で、照明光強度分布が不均一となるために、観察像の横分解能が低下するという課題がある。また、各焦点毎に光強度にばらつきが生じるという課題がある。さらに、共焦点顕微鏡の応用として、DNA チップからのばらつきの大きい蛍光信号を検出器上で一度に観察できない。

従来例 3 の多重共焦点顕微鏡では、液晶セルの多数の点を順番に開閉することにより走査を行うことで、従来例 2 の走査のように機械的な走査機構が不要となる。しかし、液晶セルの各画素をオンオフさせるために、画素数分の X-Y 走査をさせる必要があるので、一画面を走査するのに時間がかかり、実時間で試料全体の蛍光などの検出をすることが困難である。

また、上記特許文献 3 の DNA 検査装置では、マルチスポットアレイから入射する光同士が干渉しクロストークが発生し、従来例 2 の共焦点顕微鏡と同様に、照明光強度分布が不均一となるために観察像の横分解能が低下する。

さらに、上記特許文献 4 の DNA 検査装置では、マルチスポットアレイを偏光素子により形成しているが、従来 1 の共焦点顕微鏡と同様に、試料載置ステージを平面内の走査を行うことによって観察するようにしている。従来例 1 の多重共焦点顕微鏡の単焦点の場合よりも走査に要する時間は短縮されるものの、広領域

を観察するには走査を行う必要があり、蛍光などの実時間観察が困難である。

発明の開示

本発明の目的は、以上の課題に鑑みて、高感度で、横方向、深さ方向の分解能に優れ、広領域の動的な観察が可能である、液晶を用いた共焦点顕微鏡及び液晶を用いた共焦点顕微鏡によるマイクロアレイ基板からの蛍光測定方法並びに液晶を用いた共焦点顕微鏡による偏光測定方法を提供することを目的とする。

上記の課題を解決するため、本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡は、照明光源から偏光を、ビームスプリッター、マイクロレンズアレイを上部に配置したマトリクス式液晶素子及び対物レンズを介して被観察物へ入射する入射光学系と、被観察物からの反射光または蛍光を、ビームスプリッターとレンズを介して検出する撮像素子を含む検出光学系と、マトリクス式液晶素子の各画素を制御する液晶制御部を有する制御系と、を含む共焦点顕微鏡であって、マイクロレンズアレイを透過したマイクロレンズ毎の光を、マトリクス式液晶素子の各画素毎に透過させ、対物レンズにより被観察物に複数の焦点を結ばせると共に、マトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を液晶制御部を用いて制御し、液晶制御部が、マトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を互いに直交するように制御することを特徴とする。

上記構成において、好ましくは、マトリクス式液晶素子の下部に偏光子を配置し、偏光子を透過した光の偏光がマトリクス式液晶の各画素で制御される。

この構成によれば、被観察物に照射する光が、マイクロレンズアレイにより、マトリクス式液晶素子の各画素をピンホールとして入射し、被観察物に第一の複数の焦点を形成する。さらに、被観察物の反射光または蛍光が、検出光学系において、第二の複数の焦点を形成することから、本発明の顕微鏡は、共焦点顕微鏡として動作する。この際、マトリクス式液晶素子の各画素において、各画素を透過する光の偏光方向が互いに直交するように、マトリクス式液晶素子の各画素が制御される。これにより、被観察物の走査制御を行わないで、被観察物の反射光または蛍光の観察を高速に行うことができる。また、多重共焦点間におけるクロストークを防止でき、分解能が向上する。

また、本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡は、照明光源からの偏光を、ビームスプリッター、レンズ、第一のマイクロレンズアレイを上部に配置した第一のマトリクス式液晶素子を介して被観察物へ入射する入射光学系と、被観察物からの反射光または蛍光を、ビームスプリッター、レンズ、第二のマイクロレンズアレイを上部に配置した第二のマトリクス式液晶素子、集光レンズを介して検出する撮像素子を含む検出光学系と、第一及び第二のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を制御する第一及び第二の液晶制御部を含む制御系と、を備え、第一のマイクロレンズアレイを透過したマイクロレンズ毎の光を、第一のマトリクス式液晶素子の各画素毎に透過させ、被観察物に複数の焦点を結ばせ、さらに、第二のマイクロレンズアレイを透過したマイクロレンズアレイ毎の反射光または蛍光を、第二のマトリクス式液晶素子の画素毎に透過させ、撮像素子に複数の焦点を結ばせると共に、第一及び第二のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を、第一及び第二の液晶制御部を用いて制御することを特徴とする。

上記構成において、好ましくは、入射光学系の第一の液晶制御部が、第一のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を、互いに直交するように制御すればよい。また、好ましくは、検出光学系の第二の液晶制御部が、第二のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を、互いに直交するように制御すればよい。また、第一のマトリクス式液晶素子の下部に偏光子を配置し、偏光子を透過した光の偏光方向を、第一のマトリクス式液晶の各画素で制御するようにしてもよい。

この構成によれば、被観察物に照射する入射光が、第一のマイクロレンズアレイにより第一のマトリクス式液晶素子の各画素に入射し、被観察物に第一の複数の焦点を形成する。さらに、被観察物の反射光または蛍光が、検出光学系の第二のマイクロレンズアレイ及び第二のマトリクス式液晶素子の各画素を通過して第二の複数の焦点を形成することから、本発明の顕微鏡は、共焦点顕微鏡として動作する。この際、第一及び第二のマトリクス式液晶素子の各画素において、各画素を透過する光の偏光方向が互いに直交するように、各マトリクス式液晶素子の各画素が制御される。これにより、被観察物の走査制御を行わないで、被観察物

の反射光または蛍光の観察を高速に行うことができる。また、多重共焦点間におけるクロストークを防止でき、横方向及び深さ方向の分解能が向上する。さらに、第一及び第二のマトリクス式液晶素子の組み合わせにより、偏光制御、検出信号の選択等を動的に実現することができる。

また、本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡は、照明光源から光強度変調された偏光を、ビームスプリッター、マイクロレンズアレイを上部に配置したマトリクス式液晶素子及び対物レンズを介して被観察物へ入射する入射光学系と、被観察物からの反射光または蛍光を、ビームスプリッターとレンズを介して検出する撮像素子を含む検出光学系と、マトリクス式液晶素子の各画素を制御する液晶制御部と照明光源の光強度変調制御部とを含む制御系とを備え、マイクロレンズアレイを透過したマイクロレンズ毎の光をマトリクス式液晶素子の各画素毎に透過させ、対物レンズにより被観察物に複数の焦点を結ばせると共に、マトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を液晶制御部を用いて互いに直交するように制御し、被観察物からの反射光または蛍光の光強度変調信号を周波数信号に変換して検出することを特徴とする。

上記構成において、好ましくは、マトリクス式液晶素子の下部に偏光子を配置し、偏光子を透過した光の偏光を、マトリクス式液晶の各画素で制御する。また好ましくは、照明光源が一波長または多波長であり、照明光源の光強度変調をマトリクス式液晶素子、音響光学素子、デジタル・ミラー・デバイスの何れかを用いて行う。また、照明光源の一波長あたりの光強度変調が各画素毎に複数の変調周波数で印加されてもよい。

この構成によれば、さらに、被観察物に照射する入射光が光強度変調されているので、被観察物からの反射光または蛍光を周波数軸に信号変換をすることにより、被観察物からの反射光または蛍光を高感度で検出することができる。また、照明光源が多波長の場合には、多波長からの反射光または蛍光を短時間に、高感度で測定することができる。

また、本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡は、照明光源から光強度変調された偏光を、ビームスプリッター、レンズ、第一のマイクロレンズアレイを上部に配置した第一のマトリクス式液晶素子を介して被観察物へ入射する入射光学系と、

被観察物からの反射光または蛍光を、ビームスプリッター、レンズ、第二のマイクロレンズアレイを上部に配置した第二のマトリクス式液晶素子、集光レンズを介して検出する撮像素子を含む検出光学系と、第一及び第二のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を制御する第一及び第二の液晶制御部と照明光源の光強度変調制御部とを含む制御系とを備え、第一のマイクロレンズアレイを透過したマイクロレンズ毎の光を第一のマトリクス式液晶素子の各画素毎に透過させ、被観察物に複数の焦点を結ばせ、さらに、第二のマイクロレンズアレイを透過したマイクロレンズアレイ毎の反射光または蛍光を第二のマトリクス式液晶素子の画素毎に透過させ、撮像素子に複数の焦点を結ばせると共に、第一及び第二のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を第一及び第二の液晶制御部を用いて制御し、被観察物からの反射光または蛍光の光強度変調信号を周波数信号に変換して検出することを特徴とする。

上記構成において、入射光学系の第一の液晶制御部が、好ましくは、第一のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を、互いに直交するように制御する。また、好ましくは、検出光学系の第二の液晶制御部が、第二のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を、互いに直交するように制御する。また、第一のマトリクス式液晶素子の下部に偏光子を配置し、偏光子を透過した光の偏光を、マトリクス式液晶の各画素で制御してもよい。好ましくは、照明光源が一波長または多波長であり、照明光源の光強度変調がマトリクス式液晶素子、音響光学素子、デジタル・ミラー・デバイスのいずれかを用いて行われる。また、照明光源の一波長あたりの光強度変調を各画素毎に複数の変調周波数で印加してもよい。また、好ましくは、被観察物からの反射光または蛍光の光強度変調信号から周波数信号変換が、高速フーリエ変換で演算処理される。

この構成によれば、さらに、被観察物に照射する入射光が光強度変調されているので、被観察物からの反射光または蛍光を周波数軸に信号変換をすることにより、被観察物からの反射光または蛍光を高感度で検出することができる。また、照明光源が多波長の場合には、多波長からの反射光または蛍光を短時間に、高感度で測定することができる。

本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡によるマイクロアレイ基板からの蛍光測定

方法は、選択的に標識となる蛍光物質が予め付与されているマイクロアレイ基板を用いて、本発明の共焦点顕微鏡により蛍光物質からの蛍光を観察することを特徴とする。上記構成において、マイクロアレイ基板は、微量のDNAまたは生体物質を含んでおり、これらを平板状に配置した被観察物である。また、マイクロアレイ基板はDNAチップであってもよい。この構成によれば、本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡に使用することで、マイクロアレイ基板の走査無しに効率よく、蛍光の観察ができる。

また、本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡による被観察物の偏光測定方法は、被観察物からの偏光測定において、本発明の共焦点顕微鏡により被観察物の反射光または蛍光からの偏光を測定することを特徴とする。好ましくは、液晶を用いた共焦点顕微鏡の液晶マトリクスにおいて、偏光を180度変化させることにより、被観察物からの偏光測定を行う。この構成によれば、本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡において、被観察物の反射光または蛍光からの偏光を効率よく観察できる。

本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡によれば、マトリクス式液晶素子を用いることで、被観察物の走査無しに一度に被観察物の測定を行うことができる。そして、マトリクス式液晶素子の各画素の偏光制御によりクロストークを減少させ、横方向と深さ方向の分解能を向上することができる。また、光源を一波長または多波長で光強度変調を印加した場合には、反射光または蛍光を高感度で検出することができる。

本発明の共焦点顕微鏡を用いたマイクロアレイ基板の測定方法によれば、マイクロアレイ基板の機械的走査無しに効率よく、一波長または多波長の蛍光を観察することができる。

また、本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡による偏光測定方法によれば、被観察物からの偏光を、被観察物の機械的走査無しに、一波長または多波長を用いて効率よく観察できる。

図面の簡単な説明

本発明は、以下の詳細な発明及び本発明の幾つかの実施の形態を示す添付図面

に基づいて、より良く理解されるものとなろう。なお、添付図面に示す種々の実施例は本発明を特定または限定することを意図するものではなく、単に本発明の説明及び理解を容易とするためだけのものである。

図 1 は、本発明に係る第 1 の実施の形態による液晶を用いた共焦点顕微鏡の構成を示す模式図である。

図 2 は、マトリクス式液晶素子の各画素の偏光制御を模式的に示す図である。

図 3 は、図 2 のマトリクス式液晶素子における各画素を透過する光の偏光状態を示す図である。

図 4 は、本発明に係る第 1 の実施の形態による共焦点顕微鏡の別の構成を示す図である。

図 5 は、入射光学系に設けた偏光子の作用効果を説明する概略図である。

図 6 は、本発明に係る第 2 の実施の形態による共焦点顕微鏡の構成を示す模式図である。

図 7 は、本発明による共焦点顕微鏡の別の構成を示す図である。

図 8 は、本発明に係る第 3 の実施の形態による共焦点顕微鏡の構成を示す模式図である。

図 9 は、本発明に係る第 3 の実施の形態による共焦点顕微鏡の照明光学系の別の構成例を示す模式図である。

図 10 は、本発明に係る第 3 の実施の形態による共焦点顕微鏡の別の構成を示す模式図である。

図 11 は、本発明に係る第 4 の実施の形態による共焦点顕微鏡の構成を示す模式図である。

図 12 は、本発明に係る第 4 の実施の形態による共焦点顕微鏡の照明光学系の一構成例を示す模式図である。

図 13 は、本発明に係る第 4 の実施の形態による共焦点顕微鏡の別の構成を示す模式図である。

図 14 は、本発明に係る第 5 の実施の形態による共焦点顕微鏡の構成を示す模式図である。

図 15 は、本発明に係る第 5 の実施の形態による共焦点顕微鏡の照明光学系の

別の構成例を示す模式図である。

図 1 6 は、本発明による共焦点顕微鏡の別の構成を示す図である。

図 1 7 は、本発明に係る第 6 の実施の形態による共焦点顕微鏡の構成を示す模式図である。

図 1 8 は、本発明による共焦点顕微鏡の別の構成を示す図である。

図 1 9 は、従来例 1 の共焦点顕微鏡の構成を示す図である。

図 2 0 は、従来例 2 のニポウディスクを用いた多重共焦点顕微鏡の走査方式の原理を示す図である。

図 2 1 は、従来例 3 の多重共焦点顕微鏡の構成を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、この発明の実施の形態を図面を参照して詳細に説明する。

始めに本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡の第 1 の実施の形態を示す。図 1 は本発明に係る第 1 の実施の形態による液晶を用いた共焦点顕微鏡の構成を示す模式図である。液晶を用いた共焦点顕微鏡 1 は、照明光学系 1 0 と、マトリクス式液晶素子を含み被観察物へ多重焦点を形成する入射光学系 2 0 と、照明被観察物からの反射光を検出する検出光学系 3 0 と、マトリクス式液晶素子及び検出光学系からの画像データを制御する制御系 5 0 と、被観察物 2 を載置するステージ 3 から構成される。

照明光学系 1 0 は、照明光源 1 1 と、コリメータ 1 2 と、第一の偏光子 1 3 と、ビームスプリッター 1 4 とからなっている。照明光源 1 1 は、例えばレーザ光源で、出射した光は、レンズ 1 2 a 及びレンズ 1 2 b からなるコリメータ 1 2 によって所望のビーム径の平行光に拡大して、偏光子 1 3 を通ってビームスプリッター 1 4 に入射する。レーザ光源の波長は、400 nm から 700 nm 程度の波長でよい。ここで、照明光源 1 1 として直線偏光のレーザ光源を用いれば、偏光子 1 3 は省略することができる。

入射光学系 2 0 は、上から順に、マイクロレンズアレイ 2 1 と、マトリクス式液晶素子 2 2 と、対物レンズ 2 3 とからなっている。ビームスプリッター 1 4 に入射した平行光は、下部方向に反射され、一様な光強度分布の光が、ビームスプ

リッター 1 4 の下部に配設されたマイクロレンズアレイ 2 1 により、焦点がマトリクス式液晶素子 2 2 の各画素に結ばれる。

このマイクロレンズアレイ 2 1 は、マトリクス式液晶素子 2 2 の各画素 2 2 a に対応する位置に、アレイ状に配列した複数の微小レンズから構成されており、マトリクス式液晶素子 2 2 の各々の画素 2 2 a 毎に効率よく光を入射させることができる。マイクロレンズアレイ 2 1 に入射した各光は、マトリクス式液晶素子 2 2 の各画素 2 2 a をピンホールとして通過する。この各画素 2 2 a をピンホールとして通過した各光は一度拡大してから、さらに対物レンズ 2 3 によって被観察物 2 の表面に複数の焦点 2 4 として結像される。

被観察物 2 はステージ 3 に載置されている。ステージ 3 は、前後左右及び上下方向に移動可能な XYZ ステージ 3 a 及び θ ステージ 3 b から構成されている。XYZ ステージ 3 a によりステージ 3 が水平面内と垂直方向の両方で移動調整されることにより、被観察物 2 の位置調整が行なわれ得る。また、このとき、 θ ステージ 3 b により XYZ 面内の角度調整も行われることにより、被観察物 2 の位置調整が行なわれるようになっている。

次に、被観察物からの反射光を検出する検出光学系について説明する。検出光学系 3 0 において、被観察物 2 からの反射光は、入射光の経路を逆進してビームスプリッター 1 4 を介して結像レンズ 3 1 へ入射し、複数の焦点 3 2 が撮像素子 3 3 に形成され、被観察物 2 の反射光が結像される。撮像素子 3 3 としては、上記の結像を一度に受光できる CCD 型撮像素子や CMOS 型撮像素子を使用できる。さらに、これらの撮像素子 3 3 は、S/N 比（信号対雑音比）を向上させるために雑音を減らすように、例えば液体窒素やペルチェ素子を使用した冷却装置で冷却してもよい。

ここで、被観察物の反射光は、照明光源 1 1 と同一波長の場合の通常反射光の場合と、照明光源 1 1 より励起された被観察物からの励起光である蛍光の場合がある。蛍光の波長は、通常、照明光源の波長よりも長い。従って、蛍光を観測する場合には、ビームスプリッター 1 4 として、照明光源の波長と、蛍光波長を分離できるダイクロイックミラーなどを使用することができる。

制御系 5 0 は、パーソナルコンピュータ 5 1 と、第一の液晶制御部 5 2 と、画

像処理装置 5 3 とを備えている。上記パーソナルコンピュータ 5 1 は、被観察物の画像などを表示するディスプレイ装置 5 4 を備えている。

さらに、上記パーソナルコンピュータ 5 1 は、マトリクス式液晶素子 2 2 の各画素を透過する光の偏光方向を制御するデータを、液晶制御部 5 2 へ出力する。上記液晶制御部 5 2 は、マトリクス式液晶素子 2 2 の各画素 2 2 a で回転させる光の偏光方向を液晶素子駆動信号に変換する駆動回路である。この駆動回路は、パーソナルコンピュータ 5 1 からのマトリクス式液晶素子 2 2 の各画素 2 2 a の偏光信号を、マトリクス式液晶素子 2 2 に適合する液晶素子駆動信号、即ち各画素 2 2 a に関する電圧信号に変換する。そして、液晶制御部 5 2 が、各画素 2 2 a に印加する駆動電圧を適宜に調整し、または、駆動時間中に駆動電圧を変更することにより、各画素 2 2 a を透過する光の偏光方向を制御する。撮像素子 3 3 の画像信号 3 3 a は制御系 5 0 の画像処理装置 5 3 に出力されて、パーソナルコンピュータ 5 1 により画像データの演算処理などがされ、ディスプレイ装置 5 4 に画像が出力される。

次に、マトリクス式液晶素子の偏光制御について説明する。マトリクス式液晶素子 2 2 の各画素 2 2 a は、制御系 5 0 を構成する第一の液晶制御部 5 1 によって、マトリクス式液晶素子 2 2 の各々の画素 2 2 a を透過する光の偏光方向を制御する。これによって、隣り合う各画素に入射する光の偏光方向が互いに直角になるように制御される。この際、マトリクス式液晶素子の画素全部が、同時にかつ被観察物 2 の観察に必要な時間だけ制御されるので、複数の焦点 2 4 を同時に被観察物に形成することができる。

図 2 及び図 3 は、マトリクス式液晶素子の各画素の偏光制御を模式的に示す図である。図 2 に示すように、コリメータ 1 2 からの平行光 1 5 は、第一の偏光子 1 3 と、マイクロレンズアレイ 2 1 を介して、マトリクス式液晶素子 2 2 へ入射する。上記第一の偏光子 1 3 は公知の構成であって、例えば二枚のガラス板の間に偏光膜を挟んで貼り合わせるにより構成されている。

入射する平行光が第一の偏光子 1 3 により、図 2 で示すように \longleftrightarrow 方向の照明光偏光 1 6 になり、マトリクス式液晶の各画素 2 2 a により 1 7 a, 1 7 b, 1 7 c のように入射光の偏光 1 6 が制御される。ここで、マトリクス式液晶素子に

よる偏光17の偏光17a, 17b, 17cは、それぞれ照明光の偏光16に対して垂直、平行、垂直と平行の中間状態を示している。

図3は、マトリクス式液晶素子22における各画素22aを透過する光の偏光状態を示している。図中のaとbは、それぞれ、偏光が入射光と平行及び垂直の状態である。従って図示の場合は、隣接する各画素22aを透過する光の偏光方向が互いに直交するようになっている。このように、マトリクス式液晶素子22の隣接する各画素22aを透過する光の偏光方向を制御すると、互いに隣接するaとbの入射光は振動成分が直交し干渉が生じない。

ここで、干渉するのは、対角に位置するaとaおよびbとbの画素となる。対角に位置するaとa、bとbの焦点の間隔は、隣接する焦点aとbの間隔に比べ $2^{1/2}$ に広がることから、隣接する入射光の偏光を制御しない場合と比較すると $2^{-1/2}$ の0.71倍まで、隣接する焦点の間隔を近づけることができる。従って、従来と比較して約30%の横分解能の向上ができる。これにより、マトリクス式液晶を使用することで、隣接する焦点に集光される光の偏光方向は互いに直交するので、隣接する照明光同士は干渉せず、クロストークによる横分解能の低下を防ぐことができる。

次に、本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡の動作について説明する。被観察物2に照射される光は、マイクロレンズアレイ21により、マトリクス式液晶素子22の各画素22aをピンホールとして入射し、被観察物2に第一の複数の焦点24を形成する。さらに、被観察物2の反射光または蛍光が、検出光学系30において第二の複数の焦点32を形成することから、本発明の顕微鏡は共焦点顕微鏡として動作する。この際、マトリクス式液晶素子22の各画素22aにおいて、各画素22aを透過する光の偏光方向が互いに直交するように、マトリクス式液晶素子の各画素22aが制御されることができる。これにより、多重共焦点間におけるクロストークを防止でき、横方向及び深さ方向の分解能が向上する。また、被観察物2の機械的な走査を行わないで、被観察物2の反射光または蛍光の観察を高速に行うことができる。

ここで、マトリクス式液晶素子22の各画素22aの間隔であるピッチ分は、厳密には、像が得られないので、ステージ3を1ピッチ分だけX方向及びY方向

に移動させて1画面を構成してもよい。ここで、マトリクス式液晶素子22の画素のピッチは10 μm から20 μm 程度である。この1ピッチ分のステージのX-Y駆動制御は、電歪素子による駆動装置をステージ3に付加することで行うことができる。

次に、本発明において、液晶を用いた共焦点顕微鏡の第1の実施の形態の変形例を示す。図4は本発明による液晶を用いた共焦点顕微鏡の別の構成を示す図である。図4に示す共焦点顕微鏡1'が、図1に示す液晶を用いた共焦点顕微鏡1と異なるのは、入射光学系20である。他の照明光学系10、検出光学系30、制御系50、ステージ3は、図1と同じ構成であるので、説明は省略する。

入射光学系20において、マトリクス式液晶素子22の下部に第二の偏光子25を設けている点が、図1の入射光学系と異なる。

図5は入射光学系に設けた偏光子25の作用効果を説明する概略図である。図5に示すように、コリメータ12からの平行光15が第一の偏光子13と、マイクロレンズアレイ21と、マトリクス式液晶素子22を通過して入射する。ここで、上記第一の偏光子13及び第二の偏光子25は、同軸ではなく、互いに直交(90°)するように配置している。

マトリクス式液晶素子の画素22aが駆動電圧を印加されない状態では、第一の偏光子13を透過した光が画素22aを透過することで、17に示すようにその偏光方向が90°振れるために、第一の偏光子13と透過軸が90°ずれている第二の偏光子25を透過し透過光26aとなる。

一方、画素22aが駆動電圧を印加された状態では、電圧の大きさによって画素22a内の液晶分子の振れの状態が変化するため、第一の偏光子13を透過した直線偏光の偏光方向を当該画素22a内で0~90°の範囲で回転させることができる。これにより、第二の偏光子25を透過する光の強度が任意に制御される。従って、マトリクス式液晶素子22の各画素22aの駆動電圧により、入射光が、透過26a、透過しない遮光26b、これらの中間状態(グレー)26cとなるように制御されるので、照明光強度を変えることができる。

ここで、本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡の動作の特徴について説明する。この例では、第二の偏光子25を追加したことにより、照明光の強度制御を行う

ことができる。これにより、被観察物に応じて、マトリクス式液晶素子の各画素 22a を制御することで照明光強度の制御ができることになる。

次に、本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡の第 2 の実施の形態を示す。図 6 は本発明に係る第 2 の実施の形態による液晶を用いた共焦点顕微鏡の構成を示す模式図である。図において、液晶を用いた共焦点顕微鏡 5 は、照明光学系 10 と、マトリクス式液晶素子を含み被観察物 2 へ多重焦点を形成する入射光学系 20' と、被観察物からの反射光を検出する検出光学系 30' と、マトリクス式液晶素子及び検出光学系からの画像データを制御する制御系 50' と、被観察物 2 を載置するステージ 3 とから構成される。なお、図 1 と同一の構成要素には、同じ符号を付して説明は省略する。照明光学系 10 は、図 1 の照明光学系と同様に、照明光源 11 と、コリメータ 12 と、第一の偏光子 13 から構成され、偏光した平行光をビームスプリッター 14 に入射させる。

入射光学系 20' は、対物レンズ 26 と、レンズ 27 と、マイクロレンズアレイ 21 と、マトリクス式液晶素子 22 とから構成されている。ビームスプリッター 14 からの偏光した平行光は、対物レンズ 26 とレンズ 27 を用いてさらに拡大される。この拡大された一様な光強度分布の光が、第一のマイクロレンズアレイ 21 の全面に照射される。第一のマトリクス式液晶素子 22 の表面に取り付けられた第一のマイクロレンズアレイ 21 を通過したマイクロレンズ毎の光は、第一のマトリクス式液晶素子 22 の各画素 22a 毎に透過し、ステージ 3 に載置された被観察物 2 に複数の焦点 24 を形成する。

マトリクス式液晶素子 22 の各画素 22a は、図 2 及び図 3 で説明したように、制御系 50' を構成する第一の液晶制御部 51 によって、第一のマトリクス式液晶素子 22 の各画素 22a の隣り合う画素の偏光方向を互いに直交させるように制御する。これにより、第一のマトリクス式液晶 22 を使用することで、隣接する焦点に集光される入射光の偏光方向が互いに直交するので、隣接する入射光同士は干渉せず、クロストークによる横分解能の低下を防ぐことができる。

次に、被観察物 2 からの反射光または蛍光を、ビームスプリッター 14 を通過した後に検出する検出光学系 30' について説明する。

検出光学系 30' は、ミラー 34, フィルタ 35, 対物レンズ 36, レンズ 3

7, 第二のマイクロレンズアレイ 38, 第二のマトリクス式液晶素子 39, 集光レンズ 40, 撮像素子 33 から構成されている。ここで、対物レンズ 36 から第二のマトリクス式液晶素子 39 までの光学系は、入射光学系 20' の対物レンズ 26 から第一のマトリクス式液晶素子 22 までの構成と同じにする。ミラー 34 は、ビームスプリッター 14 を通過した被観察物からの反射光の光路を 90° 曲げて、特定の波長の光のみを通過させるフィルタ 35 を介して対物レンズ 36 に入射させる。

被観察物 2 からの蛍光を観察する場合には、蛍光の波長は照明光源 11 より波長が長いことから、蛍光のみを検出光学系 30' に透過させるために、ビームスプリッター 14 としてダイクロイックミラーを使用すればよい。さらに、蛍光のコントラスト向上のため、フィルタ 35 としては蛍光のみを透過させるエミッションフィルタを用いることが好ましい。

次に、対物レンズ 36 とレンズ 37 は、被観察物 2 からの反射光または蛍光をさらに拡大し、一様な光強度分布の光を第二のマイクロレンズアレイ 38 の全面に照射する。この第二のマイクロレンズアレイ 38 は、第一のマイクロレンズアレイ 21 と同じく、第二のマトリクス式液晶素子 39 の各画素に対応する位置にアレイ状に配列した微小レンズから構成されており、第二のマトリクス式液晶素子 39 の各々の画素毎に効率よく、光を入射させることができる。第二のマトリクス式液晶素子 39 の表面に取り付けられた第二のマイクロレンズアレイ 38 を通過したマイクロレンズ毎の光は、第二のマトリクス式液晶素子 39 の各画素毎に通じ、集光レンズ 40 により撮像素子 33 に複数の焦点 41 を形成する。

制御系 50' は、図 1 の制御系 50 にさらに、検出光学系 30' の第二のマトリクス式液晶素子 39 の制御部である第二の液晶制御部 55 を備えたほかは、同じ構成である。入射光学系のマトリクス式液晶素子 22 は、図 2 及び図 3 で説明したように、制御系 50' を構成する第一の液晶制御部 52 によって、マトリクス式液晶素子 22 の各画素 22a の隣り合う画素を透過する光の偏光方向を互いに直交させるように制御される。

検出光学系 30' に入射する反射光または蛍光において、それらの偏光方向が同一となり干渉の影響を受ける場合には、検出光学系の第二のマトリクス式液晶

素子 3 9 を透過する際に、反射光または蛍光の偏光方向を互いに直交させればよい。これにより、撮像素子に入射する互いに隣接する反射光または蛍光同士は、干渉せず、クロストークによる横分解能の低下を防ぐことができる。

また、検出光学系 3 0' の第二のマトリクス式液晶素子 3 9 の画素を透過する反射光に対して偏光方向の制御を行うこともできる。この際、検出光学系 3 0' のマトリクス式液晶素子 3 9 の各画素を、透過、遮光あるいはその中間の状態に制御できるので、視野の限定などができる。

ここで、本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡の動作について説明する。

被観察物 2 に照射する光が、第一のマイクロレンズアレイ 2 1 により第一のマトリクス式液晶素子の各画素 2 2 a へ入射し、被観察物 2 に第一の複数の焦点 2 4 を形成する。さらに、被観察物 2 の反射光または蛍光が、検出光学系 3 0' において、第二のマイクロレンズアレイ 3 8 と、第二のマトリクス式液晶素子 3 9 の各画素を使用して第二の複数の焦点 4 1 を形成することから、本発明の顕微鏡は共焦点顕微鏡として動作する。この際、マトリクス式液晶素子 2 2, 3 9 の各画素を透過する光において、その偏光方向が互いに直交するようにマトリクス式液晶素子 2 2, 3 9 の各画素が制御され得る。

従って、前記した従来例 1 のように、クロストークが生じない程度離れたピンホールの下に、試料を走査して時系列で画像を測定して合成する必要がある。また、従来例 2 のように、クロストークが生じない程度離れたピンホールの組み毎の画像を、時系列で測定して合成する必要がある。このため、本発明の液晶を用いた共焦点顕微鏡によれば、マトリクス式液晶素子の全ての画素をピンホールとした画面を形成しても、クロストークによる画面の乱れがなくなり、リアルタイムで被観察物の全画像を観察できる。これにより、被観察物 2 の機械的な走査制御を行わないで、被観察物 2 の反射光または蛍光の観察を高速に行うことができる。また、多重共焦点間におけるクロストークを防止できるので、横方向と深さ方向の分解能が向上する。また、2 枚のマトリクス式液晶素子の組み合わせにより、偏光制御、検出信号の選択等を実現することができる。

次に、本発明において、液晶を用いた共焦点顕微鏡の第 2 の実施の形態の変形例を示す。図 7 は、本発明による液晶を用いた共焦点顕微鏡の別の構成を示す図

である。図示する液晶を用いた共焦点顕微鏡 5' が、図 6 に示す液晶を用いた共焦点顕微鏡 5 と異なるのは、入射光学系 2 0' である。他の照明光学系 1 0、検出光学系 3 0'、制御系 5 0'、ステージ 3 は、図 6 と同じ構成であるので、説明は省略する。本例では、入射光学系 2 0' において、マトリクス式液晶素子 2 2 の下部に第二の偏光子 2 5 を設けている点が図 6 の入射光学系と異なる。

この第二の偏光子 2 5 による作用は、図 4 及び図 5 で説明したように、第一のマトリクス式液晶素子の画素 2 2 a の駆動電圧により照明光強度を変えることである。入射光学系の第一のマトリクス式液晶素子 2 2 の各画素 2 2 a において、隣り合う各画素 2 2 a を透過する光の偏光方向を互いに直交させるように、第一のマトリクス式液晶素子 2 2 の各画素が制御され得る。

ここで、被観察物 2 の反射光により撮像素子 3 3 に形成される複数の焦点 4 1 間のクロストークは、第二のマトリクス式液晶素子の各画素の偏光制御により防止できる。従って、入射光の照明制御を行なった場合であっても、反射光のクロストークのない像を形成できるので、従来の共焦点顕微鏡のように機械的な走査をして全画面を合成する必要がなく、制御系 5 0' のディスプレイ装置 5 4 で直ちに観察できる。これにより、被観察物 2 の機械的な走査を行わないで、被観察物 2 の反射光または蛍光の観察を高速に行うことができる。また、多重共焦点間におけるクロストークを防止でき、分解能が向上する。さらに、2 枚のマトリクス式液晶素子と、第二の偏光子 2 5 との組み合わせにより、照明光制御、偏光制御、検出信号の選択等を実現することができる。

次に、本発明の共焦点顕微鏡の第 3 の実施の形態を示す。図 8 は第 3 の実施の形態による液晶を用いた共焦点顕微鏡の構成を示す模式図である。図 8 に示す共焦点顕微鏡 7 が、図 1 に示す共焦点顕微鏡 1 と異なるのは、照明光学系 6 0 及び制御系 7 0 である。他の入射光学系 2 0、検出光学系 3 0、ステージ 3 は、図 1 と同じ構成であるので、それらの説明は省略する。

照明光学系 6 0 は照明光源 1 1 に光強度変調を印加できる点が、図 1 の液晶を用いた共焦点顕微鏡 1 と異なっている。照明光学系 6 0 は、照明光源 1 1 と、光強度変調部 6 1 から構成されている。光強度変調部 6 1 は、照明光源 1 1 を光強度変調したビーム光 6 2 を発生させる。照明光源 1 1 の光強度変調には、マトリ

クス式液晶素子、音響光学素子、デジタル・ミラー・デバイスなどの光強度変調素子を用いることができる。

図 8 に示す照明光学系 60 は、光強度変調素子として、マトリクス式液晶素子を用いた場合であり、照明光源 11 と、コリメータ 12 と、第三の偏光子 63 と、光強度変調用マトリクス式液晶素子 64 と、第四の偏光子 65 とから構成されている。

照明光源 11 は、例えばレーザ光源を用い、出射した光はレンズ 12a 及びレンズ 12b からなるコリメータ 12 によって所望のビーム径の平行光に拡大される。第三の偏光子 63 及び第四の偏光子 65 の配置は互いに直交する配置であり、この拡大されたビームは、第三及び第四の偏光子 63、65 の間に挿入されている光強度変調用マトリクス式液晶素子 64 の各画素に印加される電圧により光の強度が変調、所謂 AM 変調（周波数 f_1 ）される。

光強度変調用マトリクス式液晶素子 64 は、後述する制御系 70 により制御される。この際、隣接する画素同士の光強度変調周波数が異なるように、例えば、 f_1 、 f_2 というように異なる複数の周波数で強度変調してもよい。これらの変調周波数は、互いに高調波関係とならないように選定することが好ましい。

図 9 は本発明の第 3 の実施の形態による共焦点顕微鏡の照明光学系の別の構成例を示す模式図である。照明光学系 60' は、照明光源 11 とコリメータ 12 との間にさらに音響光学素子 68 が配設されている点が、図 8 の照明光学系 60 と異なる。照明光源 11 は、音響光学素子 68 により光強度変調（変調周波数 f_{AO} ）された後に、コリメータ 12 によって、所望のビーム径の平行光に拡大されたのち、光強度変調用マトリクス式液晶素子 64 により光の強度が変調され（変調周波数 f_2 ）、所謂、二重強度変調される。音響光学素子 68 は、光強度変調用マトリクス式液晶素子よりも高い周波数で光強度変調をすることができる（ $f_{AO} > f_1, f_2$ ）。

制御系 70 は、光強度変調された反射光を検出する点が、図 1 の液晶を用いた共焦点顕微鏡 1 の制御系 50 と異なる。制御系 70 は、光強度変調制御部 56 と光強度変調された反射光を検出する画像処理装置 58 を有している。光強度変調制御部 58 は、光強度変調素子 64、68 を駆動制御し、照明光源 11 の光強度

変調を行う。照明光学系 60 において光強度変調された入射光は、図 1 に示す共焦点顕微鏡 1 と同様に、入射光学系 20 を介して被観察物 2 に照射される。この被観察物 2 からの反射光は、検出光学系 30 に入射し画像処理装置 58 において信号処理されて画像信号がパーソナルコンピュータ 51 に送出される。

画像処理装置 58 は、検出電気信号用の増幅器、A/D 変換器などを備え、検出光学系からの時間軸信号をデジタル化して、パーソナルコンピュータ 51 に送出する。パーソナルコンピュータ 51 は、時間軸信号を周波数軸に変換するフーリエ変換処理をして、被観察物 2 の反射光のまたは蛍光の光強度分布を得て、ディスプレイ装置 54 に表示する。フーリエ変換は、高速フーリエ変換の計算手法により行うことができる。

次に、第 3 の実施形態に係る共焦点顕微鏡 7 の動作について説明する。

第 3 実施形態の共焦点顕微鏡 7 の動作は、被観察物 2 に照射される光が光強度変調されている点が、共焦点顕微鏡 1 と異なる。マトリクス式液晶素子 22 の各画素 22a において、各画素 22a を透過する光は光強度変調されると共に、その偏光方向が互いに直交するように、マトリクス式液晶素子の各画素 22a が制御されている。被観察物 2 からの反射光または蛍光に照射される光は、検出光学系 30 及び制御系 70 において、光強度変調された各画素からの信号を周波数信号に変換することにより、周波数軸上で検出できる。この際、液晶を用いた共焦点顕微鏡 7 内で生じるクロストーク以外の雑音などは、光強度変調周波数とは異なり周波数軸で容易に判別処理できるので、信号対雑音比 (S/N 比) を増大させることができる。即ち被観察物 2 からの反射光または蛍光を高感度で検出することができる。また、隣り合う画素同士が異なる周波数で光強度変調されている場合には、さらにクロストークを防止できる。これにより、多重共焦点間におけるクロストークを防止できるとともに、反射光または蛍光の強度を光強度変調の周波数で検出できるので高感度となり、共焦点顕微鏡 1 よりも、さらに、横方向及び深さ方向の分解能が向上する。また、被観察物 2 の機械的な走査を行わないで、被観察物 2 の反射光または蛍光の観察を高速に行うことができる。

次に、共焦点顕微鏡の上記第 3 の実施の形態の変形例を示す。図 10 は第 3 の実施の形態による液晶を用いた共焦点顕微鏡の別の構成を示す模式図である。図

10に示す共焦点顕微鏡7'が、図8に示す液晶を用いた共焦点顕微鏡7と異なるのは、入射光学系20である。他の照明光学系60、検出光学系30、制御系70、ステージ3は、図8と同じ構成であるので、説明は省略する。入射光学系20において、マトリクス式液晶素子22の下部に第二の偏光子25を設けている点が、図8の入射光学系と異なる。この例では、第二の偏光子25を追加したことにより、図5で説明したように、照明光の強度制御を行うことができる。これにより、被観察物に応じてマトリクス式液晶素子の各画素22aを制御することで、照明光強度の制御ができることになる。

次に、本発明の共焦点顕微鏡の第4の実施の形態を示す。図11は第4の実施の形態による液晶を用いた共焦点顕微鏡の構成を示す模式図である。図11に示す共焦点顕微鏡8が、図8に示す液晶を用いた共焦点顕微鏡7と異なるのは、照明光学系80及び制御系90である。他の入射光学系20、検出光学系30、ステージ3は、図8と同じ構成であるので、説明は省略する。照明光学系80は、照明光源11が複数の波長を有する光源と、各波長の光源に異なる光強度変調を印加する光強度変調部82から構成されている。図においては、照明光源11が3つの異なる波長の光源11a, 11b, 11cを有するとして説明する。光強度変調部82は、照明光源11を光強度変調したビーム光84を発生させる。照明光源11の光強度変調には、マトリクス式液晶素子、音響光学素子、デジタル・ミラー・デバイスなどの光強度変調素子を用いることができる。制御系90は、照明光源の光強度変調制御部91と、光強度変調された被観察物2の反射光または蛍光を検出する画像処理装置92と、を有している。

図12は、上記第4の実施の形態による共焦点顕微鏡の照明光学系の一構成例を示す模式図である。照明光学系80は、3つの異なる波長の光源11a, 11b, 11cのそれぞれに、コリメータ12a, 12b, 12cと、第三の偏光子63a, 63b, 63cと、光強度変調用マトリクス式液晶素子64a, 64b, 64cと、第四の偏光子66a, 64b, 64cと、ビームスプリッター85, 86, 87と、から構成されている。例えば、照明光源11aにおいては、図9で説明した照明光源11と同様に、出射した光は、レンズ12a及びレンズ12bからなるコリメータ12によって所望のビーム径の平行光に拡大される。第

三の偏光子 6 2 及び第四の偏光子 6 6 の配置は、互いに直交する配置である。この拡大されたビームは、第三の偏光子 6 2 a 及び第四の偏光子 6 6 a の間に挿入されている光強度変調用マトリクス式液晶素子 6 4 a の各画素に印加される電圧により光の強度が変調、所謂 AM 変調（周波数 f_1 ）され、光強度変調されたビーム 8 4 a となる。

光強度変調用マトリクス式液晶素子 6 4 a は、制御系 9 0 の光強度変調制御部 9 1 により制御される。照明光源 1 1 b 及び 1 1 c においても、照明光源 1 1 a と同様に、光強度変調用マトリクス式液晶素子 6 4 b 及び 6 4 c により光強度変調されたビーム 8 4 b（周波数 f_2 ）、8 4 c（周波数 f_3 ）となる。

光強度変調制御部 9 1 は、光強度変調素子 6 4 a、6 4 b、6 4 c を駆動制御し、照明光源 1 1 a、1 1 b、1 1 c の強度変調を行う。照明光学系 8 0 において光強度変調されたビーム 8 4 a、8 4 b、8 4 c は、それぞれ、ビームスプリッター 8 5、8 6、8 7 に入射し、合波されて光強度変調されたビーム 8 4 となる。ここで、隣接する画素同士の光強度変調周波数が異なるように、光強度変調されたビーム 8 4 a、8 4 b、8 4 c の各画素毎に異なる複数の周波数で強度変調してもよい。例えば、光強度変調されたビーム 8 4 a（波長 λ_1 ）の光強度変調周波数を隣り合う画素の順に f_1 、 f_2 、 f_3 とし、同様に、光強度変調されたビーム 8 4 b（波長 λ_2 ）の光強度変調周波数を f_4 、 f_5 、 f_6 とし、光強度変調されたビーム 8 4 c（波長 λ_3 ）の光強度変調周波数を f_7 、 f_8 、 f_9 としてもよい。これらの変調周波数は、互いに高調波関係とならないように選定することが好ましい。

光強度変調されたビーム 8 4 は、図 8 に示す液晶を用いた共焦点顕微鏡 7 と同様に、入射光学系を介して被観察物 2 に照射される。この被観察物 2 からの反射光または蛍光は、検出光学系 3 0 に入射し画像処理装置 9 2 において信号処理されて画像信号がパーソナルコンピュータ 5 1 に送出される。

画像処理装置 9 2 は、検出電気信号用の増幅器、A/D 変換器などを備え、検出光学系からの時間軸信号をデジタル化してパーソナルコンピュータ 5 1 に送出する。パーソナルコンピュータ 5 1 は、時間軸信号を周波数軸に変換するフーリエ変換処理をして、反射光の強度分布を得てディスプレイ装置 5 4 に表示する。

フーリエ変換は、処理時間を短くするためには高速フーリエ変換の計算手法により演算処理すればよい。

次に、上記第4実施形態の共焦点顕微鏡8の動作について説明する。この共焦点顕微鏡8の動作は、被観察物2に照射される複数の光が光強度変調されている点が、共焦点顕微鏡7と異なる。マトリクス式液晶素子22の各画素22aにおいて、各画素22aを透過する光は光強度変調されると共に、その偏光方向が互いに直交するように、マトリクス式液晶素子の各画素22aが制御されている。被観察物2からの複数の波長の反射光または蛍光は、検出光学系30及び制御系90において、各波長の光強度変調された各画素からの信号を周波数軸上で検出できる。この際、液晶を用いた共焦点顕微鏡7内で生じるクロストーク以外の雑音等などは光強度変調周波数とは異なり周波数軸で容易に判別処理できるので、信号対雑音比(S/N比)を増大させることができる。即ち、被観察物2の複数の波長からの反射光または蛍光を高感度で検出することができる。また、隣り合う画素同士が異なる周波数で光強度変調されている場合には、さらにクロストークを防止できる。これにより、多重共焦点間におけるクロストークを防止できるとともに、複数の波長からの反射光または蛍光の強度を光強度変調の周波数で検出できるので多波長において高感度となり、共焦点顕微鏡7では得られない多波長からの横方向及び深さ方向の分解能が向上する。また、被観察物2の機械的な走査を行わないで、被観察物2の反射光または蛍光の観察を高速に行うことができる。

次に、共焦点顕微鏡の第4の実施の形態の変形例を示す。図13は第4の実施の形態による液晶を用いた共焦点顕微鏡の別の構成を示す模式図である。図13に示す共焦点顕微鏡8'が、図11に示す液晶を用いた共焦点顕微鏡8と異なるのは、入射光学系20である。他の照明光学系80、検出光学系30、制御系90、ステージ3は、図11と同じ構成であるので、説明は省略する。入射光学系20において、マトリクス式液晶素子22の下部に第二の偏光子25を設けている点が、図11の入射光学系と異なる。この変形例では、第二の偏光子25を追加したことにより、図5で説明したように、照明光の強度制御を行うことができる。これにより、被観察物に応じてマトリクス式液晶素子の各画素22aを制御

することで、照明光強度の制御ができることになる。

次に、本発明の共焦点顕微鏡の第5の実施の形態を示す。図14は第5の実施形態による液晶を用いた共焦点顕微鏡の構成を示す模式図である。図14に示す共焦点顕微鏡9が、図6に示す液晶を用いた共焦点顕微鏡5と異なるのは、照明光学系60及び制御系100である。他の入射光学系20'、検出光学系30'、ステージ3は、図6と同じ構成であるので、説明は省略する。照明光学系60は、図8に示した照明光学系60と同じであり、光源11と光強度変調部62とから構成されていて、照明光源11を光強度変調用マトリクス式液晶素子64により光強度変調したビーム光62を発生させる。光強度変調用マトリクス式液晶素子64は、後述する制御系100により制御される。この際、隣接する画素同士の光強度変調周波数が異なるように、異なる複数の周波数で強度変調することが好ましい。

図15は、上記第5の実施の形態による共焦点顕微鏡の照明光学系の別の構成例を示す模式図である。この共焦点顕微鏡9Aにおいて、照明光学系60は、照明光源11と、コリメータ12との間にさらに音響光学素子68が配設されている点が、図14の照明光学系60と異なる。照明光源11は、音響光学素子68により光強度変調された後に、コリメータ12によって所望のビーム径の平行光に拡大されたのち、光強度変調用マトリクス式液晶素子64により光の強度が変調され、所謂、二重強度変調される。音響光学素子68は、光強度変調用マトリクス式液晶素子よりも高い周波数で光変調することができる。

制御系100は、光強度変調制御部56と光強度変調された反射光を検出する画像処理装置101を有している点が、図6の制御系50'と異なる。光強度変調制御部56は光強度変調素子64を駆動制御し、照明光源11の強度変調を行う。照明光学系60において光強度変調された入射光は、図6に示す共焦点顕微鏡5と同様に、入射光学系20'を介して被観察物2に照射される。この被観察物2からの反射光は、検出光学系30'に入射し画像処理装置101において信号処理されて画像信号がパーソナルコンピュータ51に送出される。

画像処理装置101は、検出電気信号用の増幅器、A/D変換器などを備え、検出光学系からの時間軸信号をデジタル化してパーソナルコンピュータ51に送

出する。パーソナルコンピュータ 51 は、時間軸信号を周波数軸に変換するフーリエ変換処理をして、被観察物 2 の反射光または蛍光の光強度分布を得てディスプレイ装置 54 に表示する。フーリエ変換は、高速フーリエ変換の計算手法により行うことができる。

ここで、第 5 の実施形態の共焦点顕微鏡の動作について説明する。上記第 5 の実施形態の共焦点顕微鏡 9 では、第 2 の実施形態による共焦点顕微鏡 5 の動作で説明したと同様に、マトリクス式液晶素子 22, 39 の各画素を透過する光の偏光方向が互いに直交するように、マトリクス式液晶素子 22, 39 の各画素が制御される。

第 5 の実施形態では、被観察物 2 からの反射光または蛍光に照射される光は、検出光学系 30 及び制御系 100 において、光強度変調された各画素からの信号を周波数軸上で検出できる。この際、液晶を用いた共焦点顕微鏡 9 内で生じるクロストーク以外の雑音などは光強度変調周波数とは異なり周波数軸で容易に判別処理できるので、信号対雑音比 (S/N 比) を増大させることができる。即ち、被観察物 2 からの反射光または蛍光を高感度で検出することができる。また、隣り合う画素同士が異なる周波数で光強度変調されている場合には、さらにクロストークを防止できる。

次に、本発明の共焦点顕微鏡の第 5 の実施の形態の変形例を図 16 に示す。図示する液晶を用いた共焦点顕微鏡 9B が、図 14 に示す液晶を用いた共焦点顕微鏡 9 と異なるのは、入射光学系 20' である。他の照明光学系 60、検出光学系 30'、制御系 100、ステージ 3 は、図 14 と同じ構成であるので、説明は省略する。本例では、入射光学系 20' において、マトリクス式液晶素子 22 の下部に第二の偏光子 25 を設けている点が図 14 の入射光学系と異なる。

この第二の偏光子 25 による作用は、図 4 及び図 5 で説明したように、第一のマトリクス式液晶素子の画素 22a の駆動電圧により照明光強度を変えることである。入射光学系の第一のマトリクス式液晶素子 22 の各画素 22a において、隣り合う各画素 22a を透過する光の偏光方向を互いに直交させるように、第一のマトリクス式液晶素子 22 の各画素が制御され得る。

次に、本発明の共焦点顕微鏡の第 6 の実施の形態を図 17 に示す。共焦点顕微

鏡 9 C が、図 1 4 に示す共焦点顕微鏡 9 と異なるのは、照明光学系 8 0 と制御系 1 0 0' である。なお、図 1 4 と同一の構成要素には同じ符号を付して説明は省略する。照明光学系 8 0 は、図 1 1 及び図 1 2 と同じ構成とすることができるので詳しい説明は省略する。また、制御系 1 0 0' は、光強度変調制御部 5 6 と光強度変調された反射光を検出する画像処理装置 1 0 1 を有している以外は、図 1 4 と同じ構成とすることができるので詳しい説明は省略する。

ここで、照明光源 1 1 は異なる 3 波長の光 1 1 a, 1 1 b, 1 1 c を有し、それぞれの波長の光は光強度変調されている。マトリクス式液晶素子 2 2, 3 9 の各画素を透過する光において、その偏光方向が互いに直交するようにマトリクス式液晶素子 2 2, 3 9 の各画素が制御され。そして、各画素において、異なる波長の反射光または蛍光が光強度変調されているので、クロストークが生じない。また、各画素における波長の異なる入射光は光強度変調周波数が異なるので、各波長からの反射光または蛍光を容易に識別することができる。

さらに、共焦点顕微鏡 9 内で生じるクロストーク以外の雑音等も光強度変調周波数とは異なり周波数軸で容易に判別処理できるので、信号対雑音比 (S/N 比) を増大させることができる。即ち、被観察物 2 からの反射光または蛍光を高感度で検出することができる。

これにより、被観察物 2 の機械的な走査と、波長により検出器の切り替えを行うことなしに、被観察物 2 の多波長からの反射光または蛍光の観察を高速に高感度で行うことができる。また、多重共焦点間におけるクロストークを防止でき、分解能が向上する。

次に、共焦点顕微鏡の第 6 の実施の形態の変形例を図 1 8 を参照しつつ説明する。図示の液晶を用いた共焦点顕微鏡 9 D が、図 1 7 に示す共焦点顕微鏡 9 C と異なるのは入射光学系 2 0' である。他の照明光学系 8 0、検出光学系 3 0'、制御系 1 0 0'、ステージ 3 は、図 1 7 と同じ構成であるので説明は省略する。本例では、入射光学系 2 0' において、マトリクス式液晶素子 2 2 の下部に第二の偏光子 2 5 を設けている点が図 1 7 の入射光学系と異なる。

この第二の偏光子 2 5 による作用は、図 4 及び図 5 で説明したように、第一のマトリクス式液晶素子の画素 2 2 a の駆動電圧により、照明光強度を変えること

である。入射光学系の第一のマトリクス式液晶素子 22 の各画素 22a において、隣り合う各画素 22a を透過する光の偏光方向を互いに直交させるように、第一のマトリクス式液晶素子 22 の各画素が制御される。

ここで、被観察物 2 の反射光により撮像素子 33 に形成される複数の焦点 41 間のクロストークは、第二のマトリクス式液晶素子の各画素の偏光制御により防止できる。従って、入射光の照明制御を行なった場合であっても、反射光のクロストークのない像を形成できるので、従来の共焦点顕微鏡のように機械的な走査をして全画面を合成する必要がなく、制御系 100' のディスプレイ装置 54 で直ちに観察できる。これにより、被観察物 2 の機械的な走査を行わないで、被観察物 2 の多波長からの反射光または蛍光の観察を高速に行うことができる。また、多重共焦点間におけるクロストークを防止でき、分解能が向上するとともに、光変調された光源により感度を向上させることができる。さらに、2 枚のマトリクス式液晶素子と、第二の偏光子 25 との組み合わせにより、照明光制御、偏光制御、検出信号の選択等を実現することができる。

以下、共焦点顕微鏡を用いたマイクロアレイ基板の測定方法の実施の形態を説明する。

ここで、マイクロアレイ基板は、微量の DNA、または、生体物質を平板状に配置した被観察物である。これらのマイクロアレイ基板は、選択的に標識となる蛍光物質が予め付与されている。また、このマイクロアレイ基板は、蛍光標識化した未知の一本鎖 DNA とハイブリダイゼーション反応させた DNA マイクロアレイ基板でもよい。

上記 DNA マイクロアレイ基板を、図 6 に示す本発明の共焦点顕微鏡 5 を用いて観察する測定方法について説明する。共焦点顕微鏡 5 の第一及び第二のマトリクス式液晶素子 22 及び 39 の大きさは、DNA マイクロアレイ基板よりも十分に大きいものを使用する。従って、DNA マイクロアレイ基板の全体の反射像または蛍光は、共焦点顕微鏡 5 を用いて観察できる。

先ず、DNA マイクロアレイ基板をステージ 3 に載置して照明光源 11 を点灯する。次に、照明光源 11 の焦点位置と、DNA マイクロアレイ基板の検出位置が重なるように、観察する DNA マイクロアレイ基板の Z 方向位置を XYZ ステ

ージ 3 a 及び θ ステージ 3 b を用いて調節する。

DNA マイクロアレイ基板への入射光は、マトリクス式液晶素子 2 2 によって、隣接する画素を透過した入射光の偏光方向を互いに直交させるように第一の液晶制御部 5 2 により制御される。この際、検出光学系の第二のマトリクス式液晶素子 3 9 の各画素もまた、第二の液晶制御部により制御される。

このようにして、DNA マイクロアレイ基板で発生した全部の蛍光が、撮像素子 3 3 として、例えば CCD カメラを使用することで同時に検出でき、検出する信号の強度や偏光方向を変化させて蛍光画像観察を行うことができる。

ここで、マトリクス式液晶素子 2 2, 3 9 の画素の大きさは、 $10\ \mu\text{m} \sim 20\ \mu\text{m}$ であり、例えば、DNA マイクロアレイ基板で発生する一つの蛍光の大きさは直径が $100\ \mu\text{m}$ 程度であるので、分解能は十分にある。従って、DNA マイクロアレイ基板の蛍光の数や蛍光発生個所を、直ちに判別することができる。そして、制御系 5 0 のパーソナルコンピュータ 5 1 を使用して、画像の記録やデータ処理を敏速に行うことができる。

また、上記 DNA マイクロアレイ基板を、図 1 4 に示す本発明の共焦点顕微鏡 9 を用いて観察すれば、光源が光強度変調されており、DNA マイクロアレイ基板から蛍光を周波数軸で高感度で測定できる。

次に、選択的に標識となる複数の蛍光波長を有する蛍光物質が予め付与されている場合の DNA マイクロアレイ基板を、図 1 1 に示す本発明の共焦点顕微鏡 5 を用いて観察する測定方法について説明する。図 1 6 に示す本発明の共焦点顕微鏡 9 B を用いて観察すれば、光源が多波長で、各波長が光強度変調されており、DNA マイクロアレイ基板からの多波長の蛍光を周波数軸で高感度で測定することができる。

上記した共焦点顕微鏡を用いたマイクロアレイ基板の測定方法によれば、マイクロアレイ基板上にマトリクス式液晶素子の画素数に相当する多重の焦点が生じ、その反射光が分離光学系を通して共焦点検出光学系へ入射し、マトリクス式液晶素子を通して画素数に相当する多重の焦点として形成される。従って、本発明の共焦点顕微鏡によれば、マトリクス式液晶素子の画素数に対応する被観察物を一度に観察することができる。また、一波長に限らず多波長の光源を用いること

ができるので、DNAマイクロアレイ基板上からの多波長の蛍光を短時間に、精度よく測定することができる。これにより、DNAマイクロアレイ基板上で励起された蛍光の鮮明な全体像が、DNAマイクロアレイ基板の機械的な走査なしに、すなわちリアルタイムで観察できる。

次に、共焦点顕微鏡を用いた偏光の測定方法の実施の形態を説明する。偏光は被観察物 2 の反射光または蛍光からの偏光であり、例えば、図 17 に示す本発明の共焦点顕微鏡 9 C を用いて、上記 DNA マイクロアレイ基板による蛍光からの偏光を観察する場合を例にとって説明する。

先ず、DNA マイクロアレイ基板をステージ 3 に載置して、照明光源 11 を点灯する。次に、照明光源 11 の焦点位置と、DNA マイクロアレイ基板の検出位置が重なるように、観察する DNA マイクロアレイ基板の Z 方向位置を XYZ ステージ 3 a 及び θ ステージ 3 b を用いて調節する。

DNA マイクロアレイ基板への入射光は、マトリクス式液晶素子 22 によって、隣接する画素を透過した入射光の偏光方向を互いに变化させるように第一の液晶制御部 52 により制御される。この際、各画素を透過する光の偏光方向を画素毎に独立して制御することができる。この偏光を 180 度回転させると、偏光子 25 を透過する光の量が変化し、被観察物からの偏光の変化を観察することができる。

このようにして、DNA マイクロアレイ基板、生物試料、糖などにおける蛍光や反射光からの偏光を撮像素子 33 として、例えば CCD カメラを使用することで検出できる。また、本発明の共焦点顕微鏡 9 B を用いて観察すれば、光源が多波長で各波長が光強度変調されており、DNA マイクロアレイ基板からの多波長の蛍光の偏光を周波数軸で高感度で測定することができる。

ここで、マトリクス式液晶素子 22, 39 の画素の大きさは、 $10\ \mu\text{m} \sim 20\ \mu\text{m}$ であり、例えば DNA マイクロアレイ基板で発生する一つの蛍光の大きさは直径が $100\ \mu\text{m}$ 程度であるので、分解能は十分にある。従って、DNA マイクロアレイ基板の蛍光の偏光を直ちに測定することができる。この際、制御系 50 のパーソナルコンピュータ 51 を使用して、画像の記録やデータ処理を敏速に行うことができる。

本発明の共焦点顕微鏡を用いた反射光や蛍光の偏光の測定方法によれば、マイクロアレイ基板上にマトリクス式液晶素子の画素数に相当する多重の焦点が生じ、その反射光が、分離光学系を通して共焦点検出光学系へ入射し、マトリクス式液晶素子を通して画素数に相当する多重の焦点として形成される。従って、本発明の共焦点顕微鏡によれば、マトリクス式液晶素子の画素数に対応する被観察物からの偏光を一度に観察することができる。また、一波長に限らず多波長の光源を用いることができるので、被観察物からの多波長の反射光または蛍光からの偏光を短時間に精度よく測定することができる。

本発明は、上記実施の形態に限定されることなく、特許請求の範囲に記載した発明の範囲内で種々の変形が可能であり、それらも本発明の範囲内に含まれることとはいうまでもない。上述した実施形態においては、検出光学系に撮像素子を用いたが、撮像素子位置で目視の観察や写真撮影なども行うことができるように、検出系は必要に応じて複数の検出系とすることも可能である。また、多波長とする入射光学系及び検出光学系の構成や光強度変調素子などは、被観察物に応じて最適な設計や使用部品を選定できることは勿論である。

請 求 の 範 囲

1. 照明光源から偏光を、ビームスプリッター、マイクロレンズアレイを上部に配置したマトリクス式液晶素子及び対物レンズを介して被観察物へ入射する入射光学系と、

被観察物からの反射光または蛍光を、上記ビームスプリッターとレンズを介して検出する撮像素子を含む検出光学系と、

上記マトリクス式液晶素子の各画素を制御する液晶制御部を含む制御系を含む制御系と、を備えた共焦点顕微鏡であって、

上記マイクロレンズアレイを透過したマイクロレンズ毎の光を、上記マトリクス式液晶素子の各画素毎に透過させ、上記対物レンズにより上記被観察物に複数の焦点を結ばせると共に、

上記マトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を上記液晶制御部を用いて制御し、上記液晶制御部が、マトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を互いに直交するように制御することを特徴とする、液晶を用いた共焦点顕微鏡。

2. 前記マトリクス式液晶素子の下部に偏光子を配置し、該偏光子を透過した光の偏光が、前記マトリクス式液晶の各画素で制御されることを特徴とする、請求項1に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡。

3. 照明光源からの偏光を、ビームスプリッター、レンズ、第一のマイクロレンズアレイを上部に配置した第一のマトリクス式液晶素子を介して被観察物へ入射する入射光学系と、

被観察物からの反射光または蛍光を、ビームスプリッター、レンズ、第二のマイクロレンズアレイを上部に配置した第二のマトリクス式液晶素子、集光レンズを介して検出する撮像素子を含む検出光学系と、

上記第一及び第二のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を制御する第一及び第二の液晶制御部とを含む制御系と、を備えた共焦点顕微鏡で

あって、

上記第一のマイクロレンズアレイを透過したマイクロレンズ毎の光を、上記第一のマトリクス式液晶素子の各画素毎に透過させ、上記被観察物に複数の焦点を結ばせ、

さらに、上記第二のマイクロレンズアレイを透過したマイクロレンズアレイ毎の上記反射光または蛍光を、上記第二のマトリクス式液晶素子の画素毎に透過させ、上記撮像素子に複数の焦点を結ばせると共に、

上記第一及び第二のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を、上記第一及び第二の液晶制御部を用いて制御することを特徴とする、液晶を用いた共焦点顕微鏡。

4. 前記入射光学系の第一の液晶制御部が、第一のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を、互いに直交するように制御することを特徴とする、請求項3に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡。

5. 前記検出光学系の第二の液晶制御部が、第二のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を、互いに直交するように制御することを特徴とする、請求項3に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡。

6. 前記第一のマトリクス式液晶素子の下部に偏光子を配置し、該偏光子を透過した光の偏光方向が、前記第一のマトリクス式液晶の各画素で制御されることを特徴とする、請求項3に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡。

7. 照明光源から光強度変調された偏光を、ビームスプリッター、マイクロレンズアレイを上部に配置したマトリクス式液晶素子及び対物レンズを介して被観察物へ入射する入射光学系と、

被観察物からの反射光または蛍光を、上記ビームスプリッターとレンズを介して検出する撮像素子を含む検出光学系と、

上記マトリクス式液晶素子の各画素を制御する液晶制御部と上記照明光源の光

強度変調制御部とを含む制御系と、を備えた共焦点顕微鏡であって、

上記マイクロレンズアレイを透過したマイクロレンズ毎の光を、上記マトリクス式液晶素子の各画素毎に透過させ、上記対物レンズにより上記被観察物に複数の焦点を結ばせると共に、

上記マトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を上記液晶制御部を用いて互いに直交するように制御し、

上記被観察物からの反射光または蛍光の光強度変調信号を周波数信号に変換することにより検出することを特徴とする、液晶を用いた共焦点顕微鏡。

8. 前記マトリクス式液晶素子の下部に偏光子を配置し、該偏光子を透過した光の偏光が、前記マトリクス式液晶の各画素で制御されることを特徴とする、請求項7に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡。

9. 前記照明光源が一波長または多波長であり、前記照明光源の光強度変調がマトリクス式液晶素子、音響光学素子、デジタル・ミラー・デバイスのいずれかの素子を用いて行われることを特徴とする、請求項7に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡。

10. 前記照明光源の一波長あたりの光強度変調が各画素毎に複数の変調周波数で印加されることを特徴とする、請求項7または9に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡。

11. 前記被観察物からの反射光または蛍光の光強度変調信号から周波数信号への変換が、高速フーリエ変換で演算処理されることを特徴とする、請求項7に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡。

12. 照明光源から光強度変調された偏光を、ビームスプリッター、レンズ、第一のマイクロレンズアレイを上部に配置した第一のマトリクス式液晶素子を介して被観察物へ入射する入射光学系と、

被観察物からの反射光または蛍光を、ビームスプリッター、レンズ、第二のマイクロレンズアレイを上部に配置した第二のマトリクス式液晶素子、集光レンズを介して検出する撮像素子を含む検出光学系と、

上記第一及び第二のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を制御する第一及び第二の液晶制御部と上記照明光源の光強度変調制御部とを含む制御系と、を備えた共焦点顕微鏡であって、

上記第一のマイクロレンズアレイを透過したマイクロレンズ毎の光を、上記第一のマトリクス式液晶素子の各画素毎に透過させ、上記被観察物に複数の焦点を結ばせ、

さらに、上記第二のマイクロレンズアレイを透過したマイクロレンズアレイ毎の上記反射光または蛍光を、上記第二のマトリクス式液晶素子の画素毎に透過させ、上記撮像素子に複数の焦点を結ばせると共に、

上記第一及び第二のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を、上記第一及び第二の液晶制御部を用いて制御し、

上記被観察物からの反射光または蛍光の光強度変調信号を周波数信号に変換することにより検出することを特徴とする、液晶を用いた共焦点顕微鏡。

13. 前記入射光学系の第一の液晶制御部が、前記第一のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を、互いに直交するように制御することを特徴とする、請求項12に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡。

14. 前記検出光学系の第二の液晶制御部が、前記第二のマトリクス式液晶素子の各画素を透過する光の偏光方向を、互いに直交するように制御することを特徴とする、請求項12に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡。

15. 前記第一のマトリクス式液晶素子の下部に偏光子を配置し、該偏光子を透過した光の偏光が、前記マトリクス式液晶の各画素で制御されることを特徴とする、請求項12に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡。

16. 前記照明光源が一波長または多波長であり、前記照明光源の光強度変調がマトリクス式液晶素子、音響光学素子、デジタル・ミラー・デバイスの何れかを用いて行われることを特徴とする、請求項12に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡。

17. 前記照明光源の一波長あたりの光強度変調が各画素毎に複数の変調周波数で印加されることを特徴とする、請求項12または16に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡。

18. 前記被観察物からの反射光または蛍光の光強度変調信号から周波数信号への変換が、高速フーリエ変換で演算処理されることを特徴とする、請求項12に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡。

19. 選択的に標識となる蛍光物質が予め付与されているマイクロアレイ基板の蛍光測定において、

請求項1乃至18の何れかに記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡を使用して、上記蛍光物質からの蛍光を観察することを特徴とする、液晶を用いた共焦点顕微鏡によるマイクロアレイ基板からの蛍光測定方法。

20. 前記マイクロアレイ基板が、微量のDNAまたは生体物質を含んでいることを特徴とする、請求項19に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡によるマイクロアレイ基板の蛍光測定方法。

21. 前記マイクロアレイ基板が、DNAチップであることを特徴とする、請求項19または20に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡によるマイクロアレイ基板の蛍光測定方法。

22. 被観察物からの反射光または蛍光からの偏光測定において、請求項1乃至18の何れかに記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡を使用して、上記被観

察物からの偏光を測定することを特徴とする、上記共焦点顕微鏡による偏光測定方法。

23. 前記液晶を用いた共焦点顕微鏡の液晶マトリクスにおいて、前記偏光を180度変化させることにより、前記被観察物からの偏光測定を行うことを特徴とする、請求項22に記載の液晶を用いた共焦点顕微鏡による偏光測定方法。

図 1

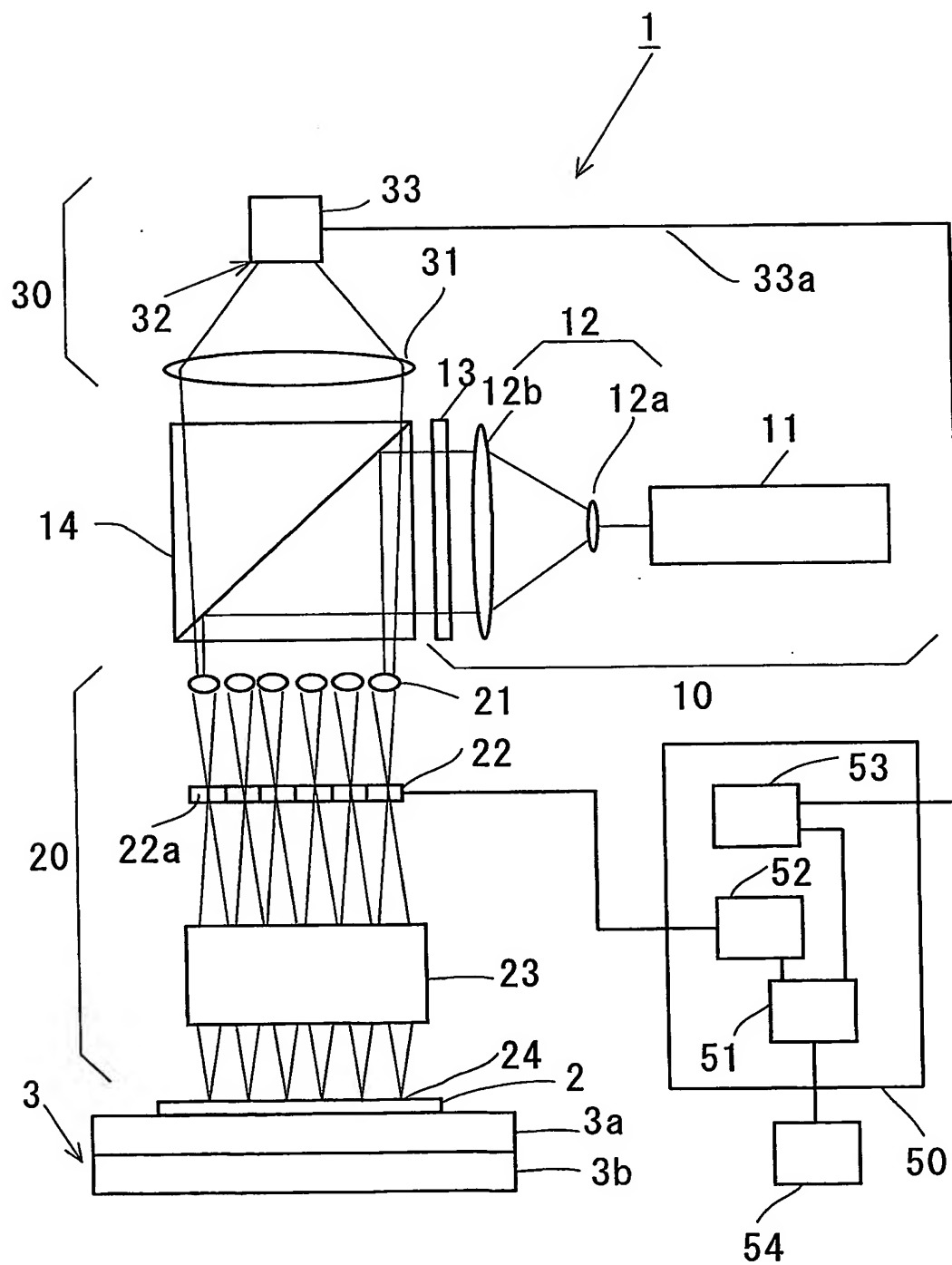


図 2

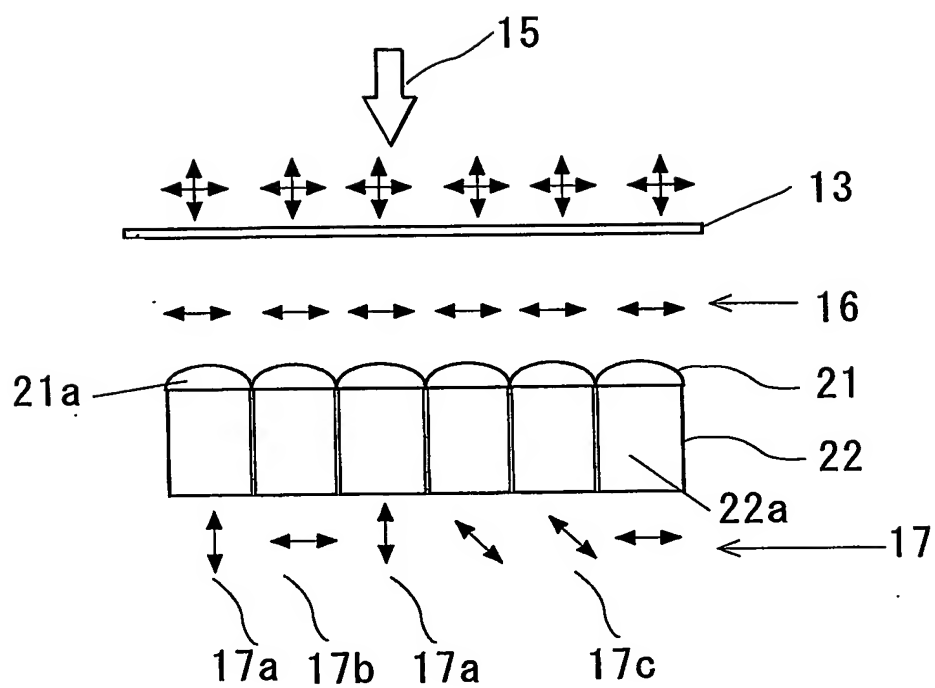
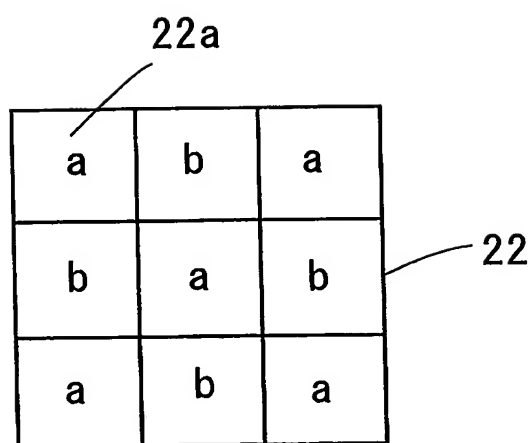


図 3



偏光 a: \parallel , b: \perp

図 4

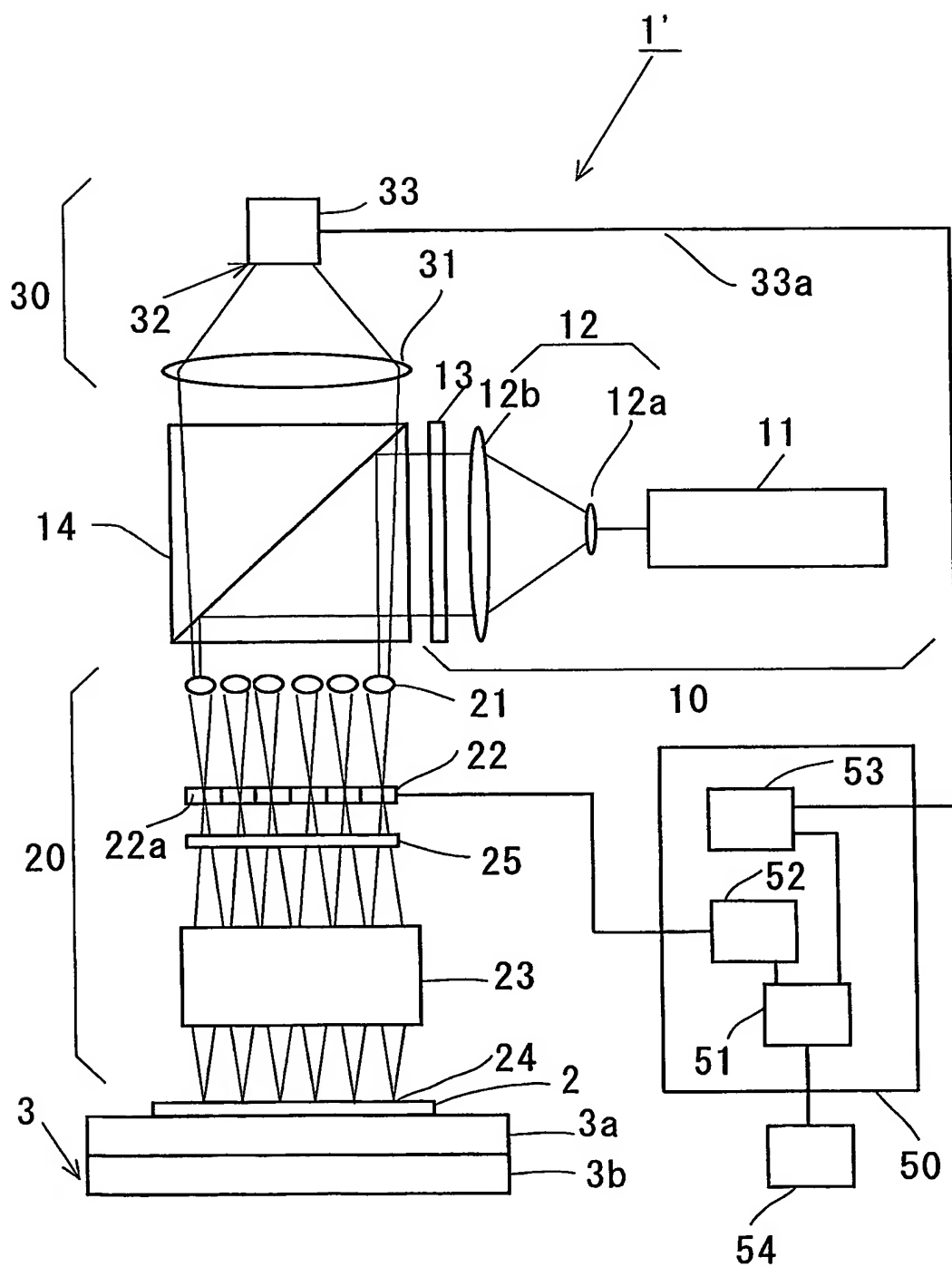


図 5

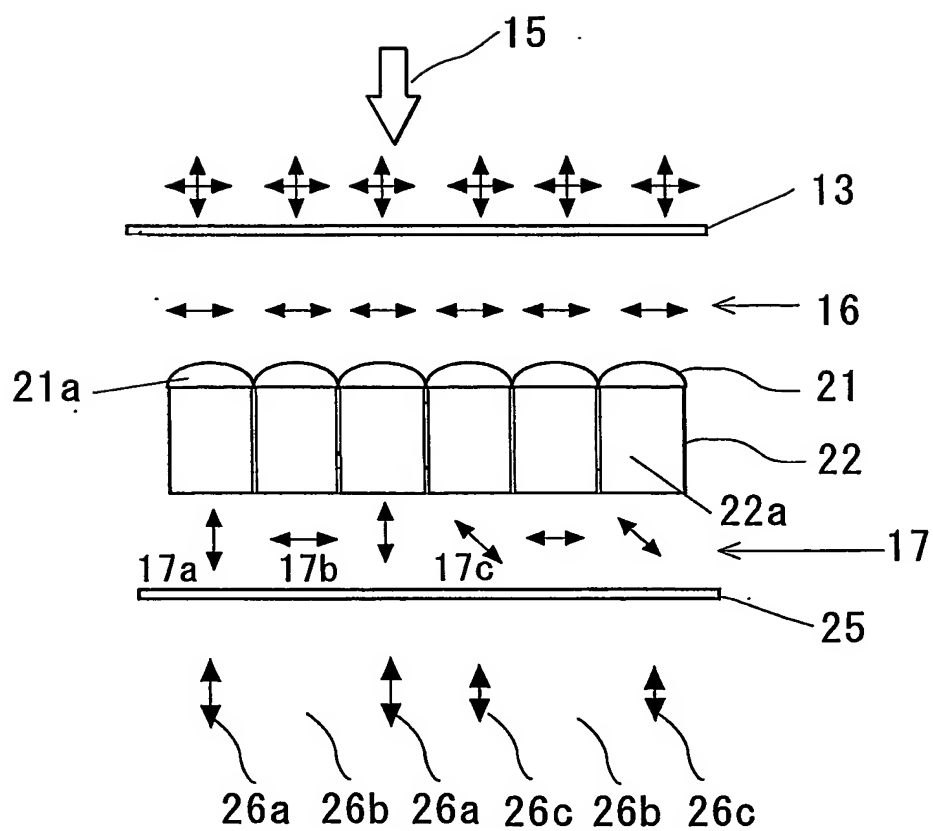


図 6

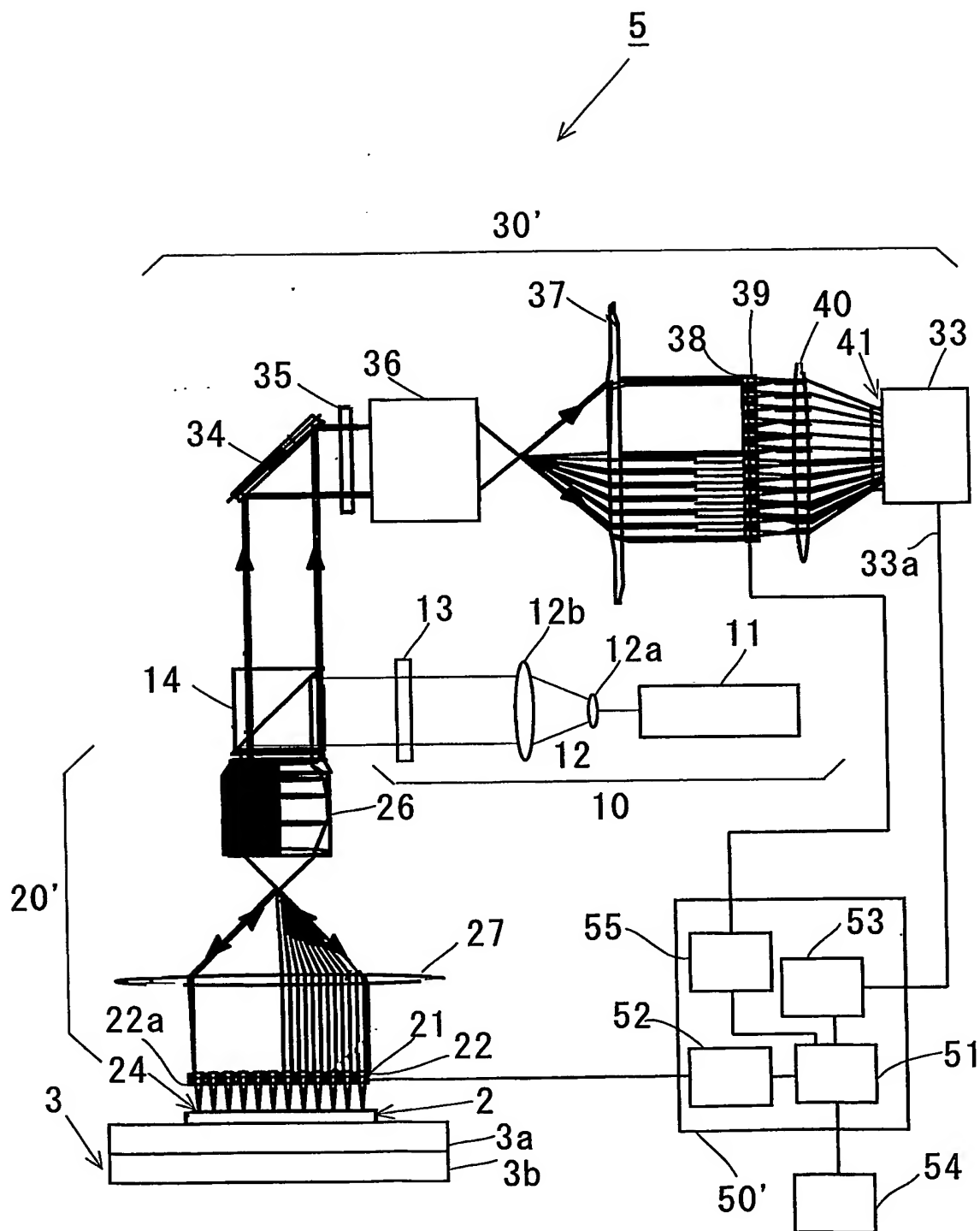


図 7

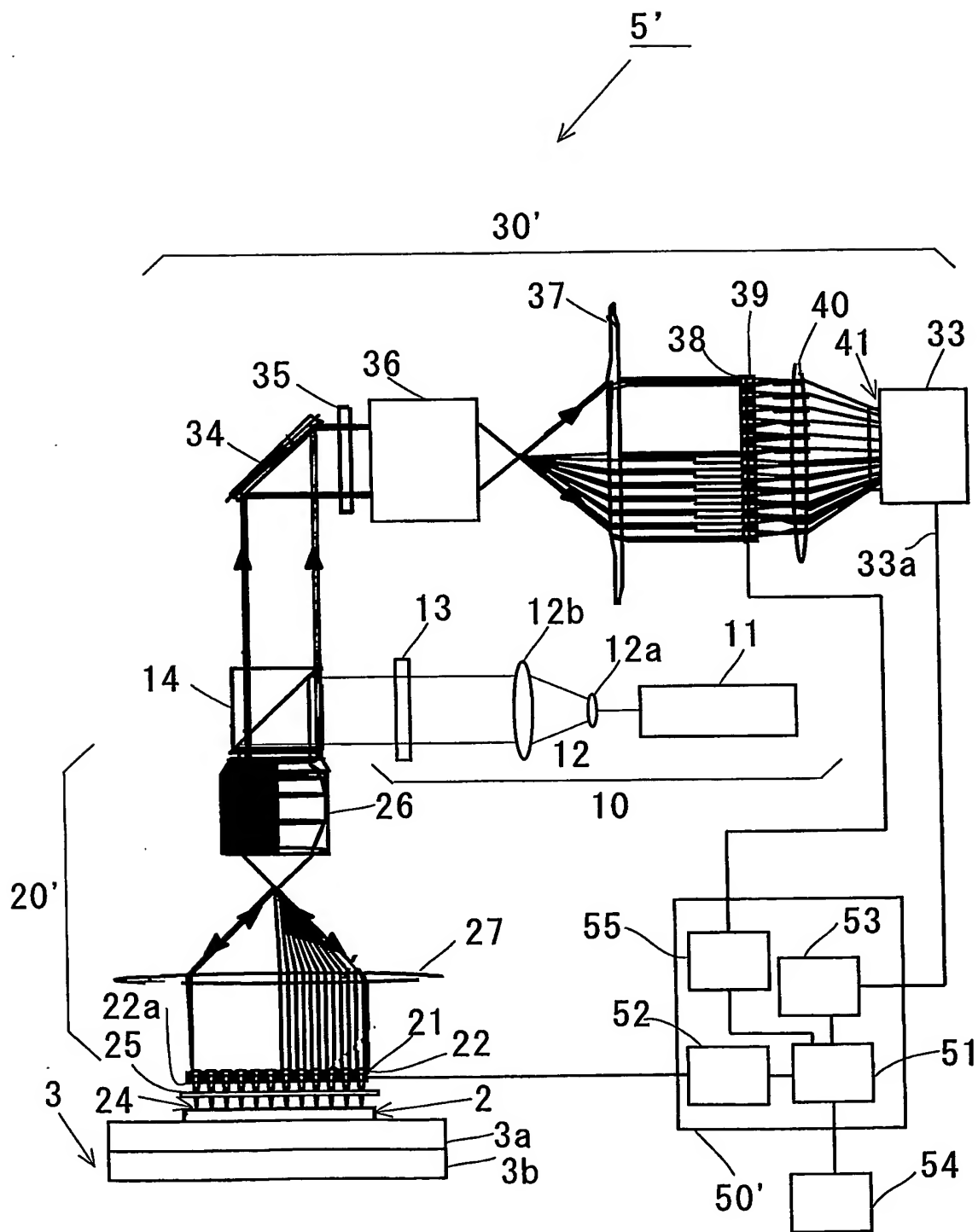


図 8

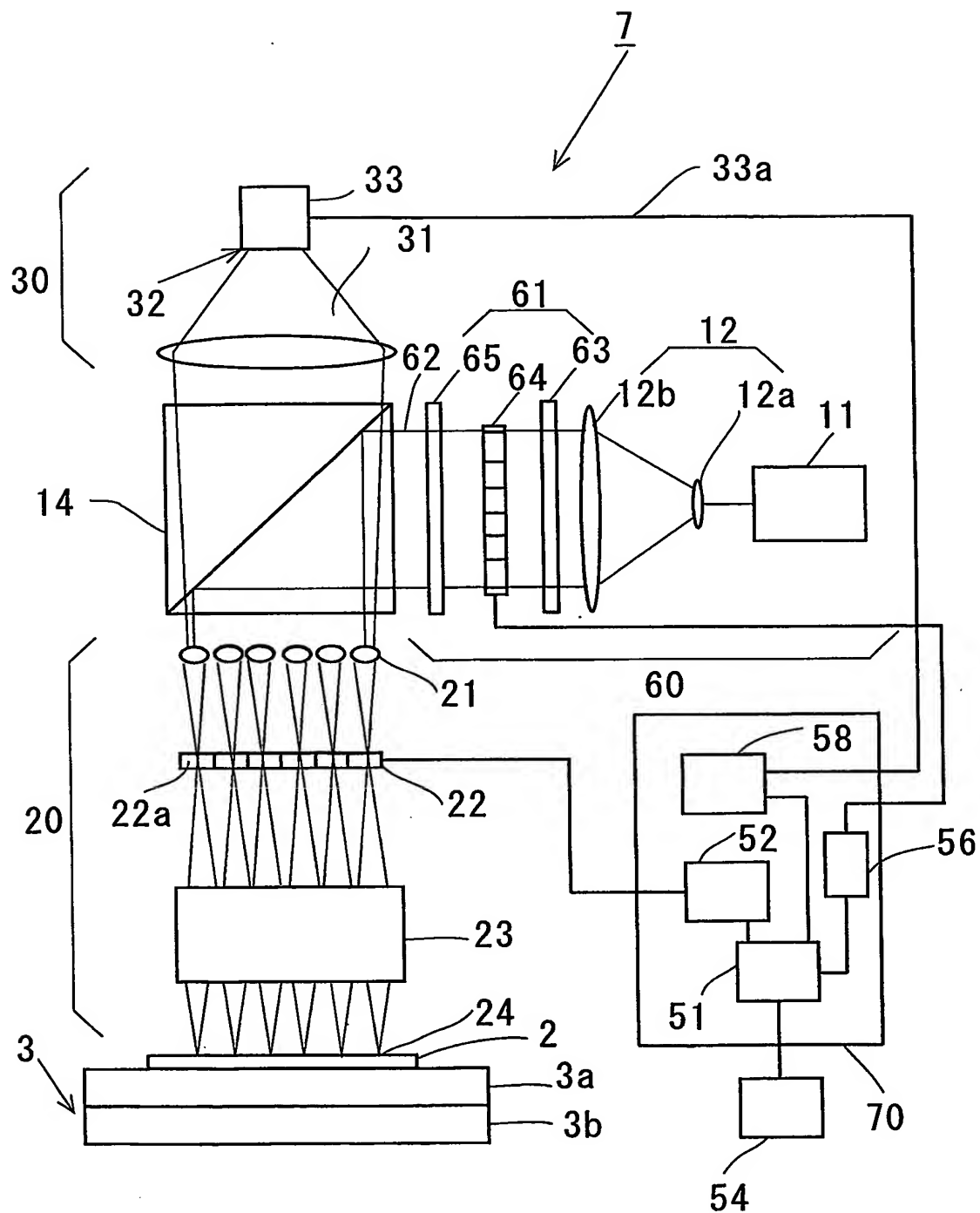


图 9

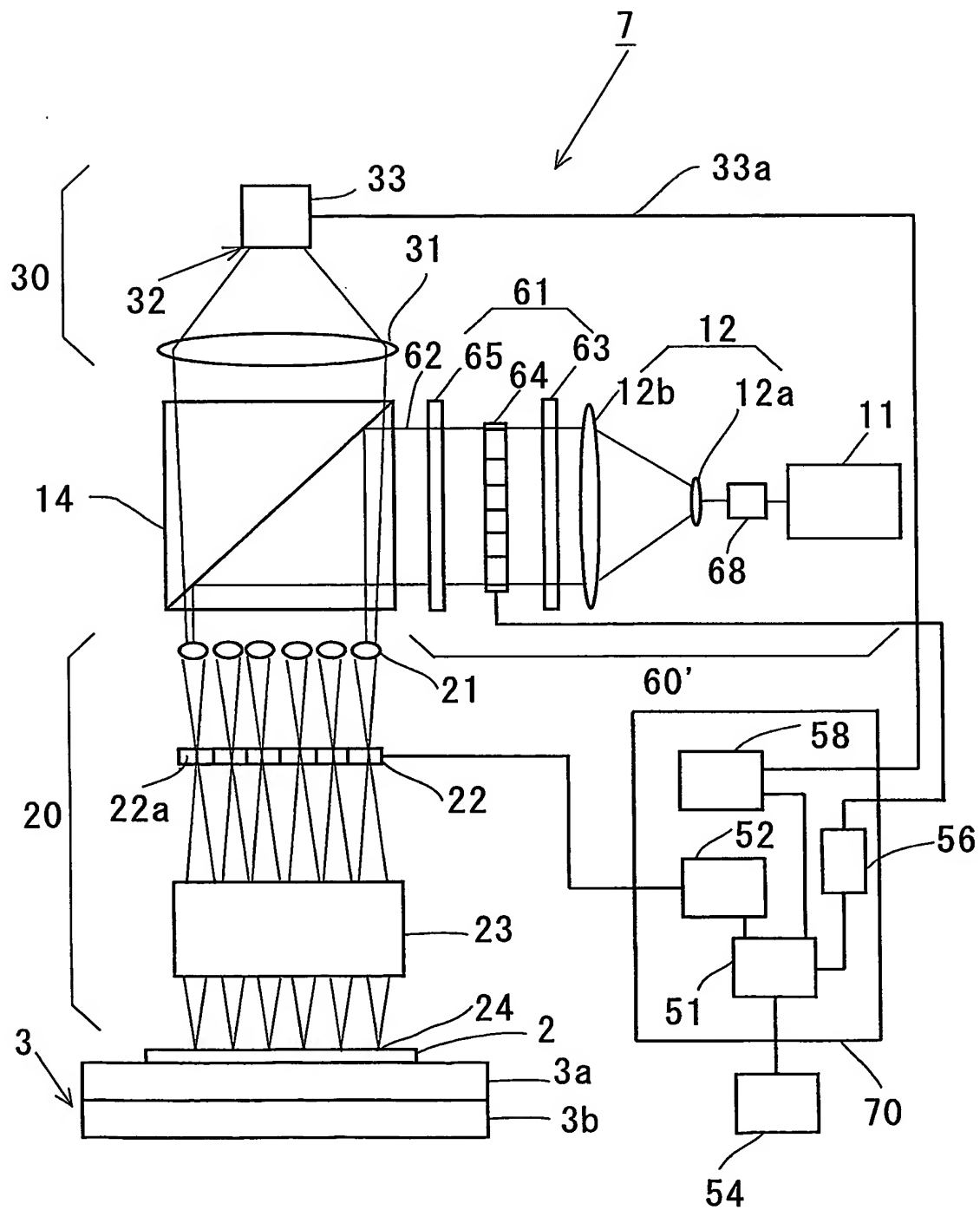


図 10

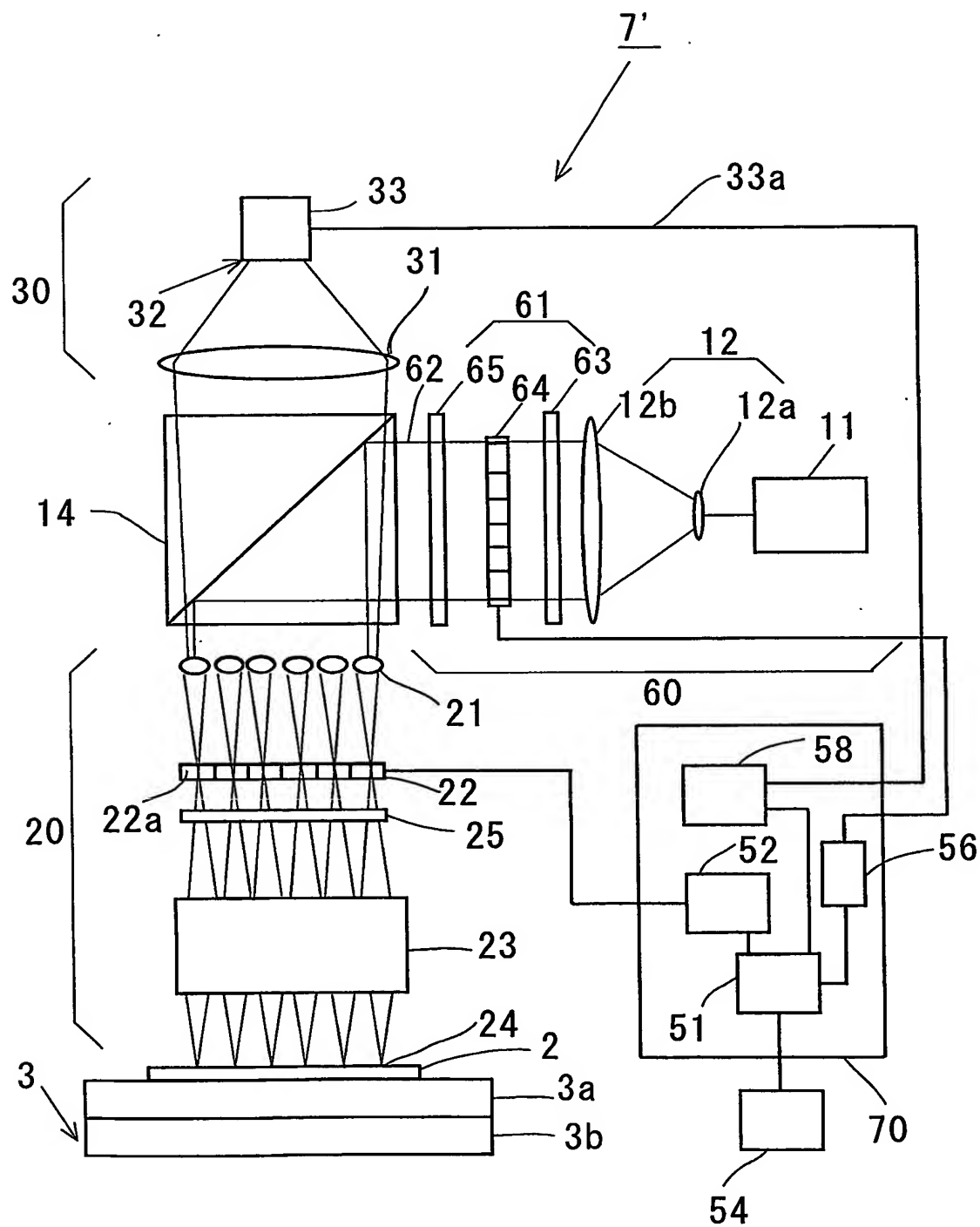


図 1 1

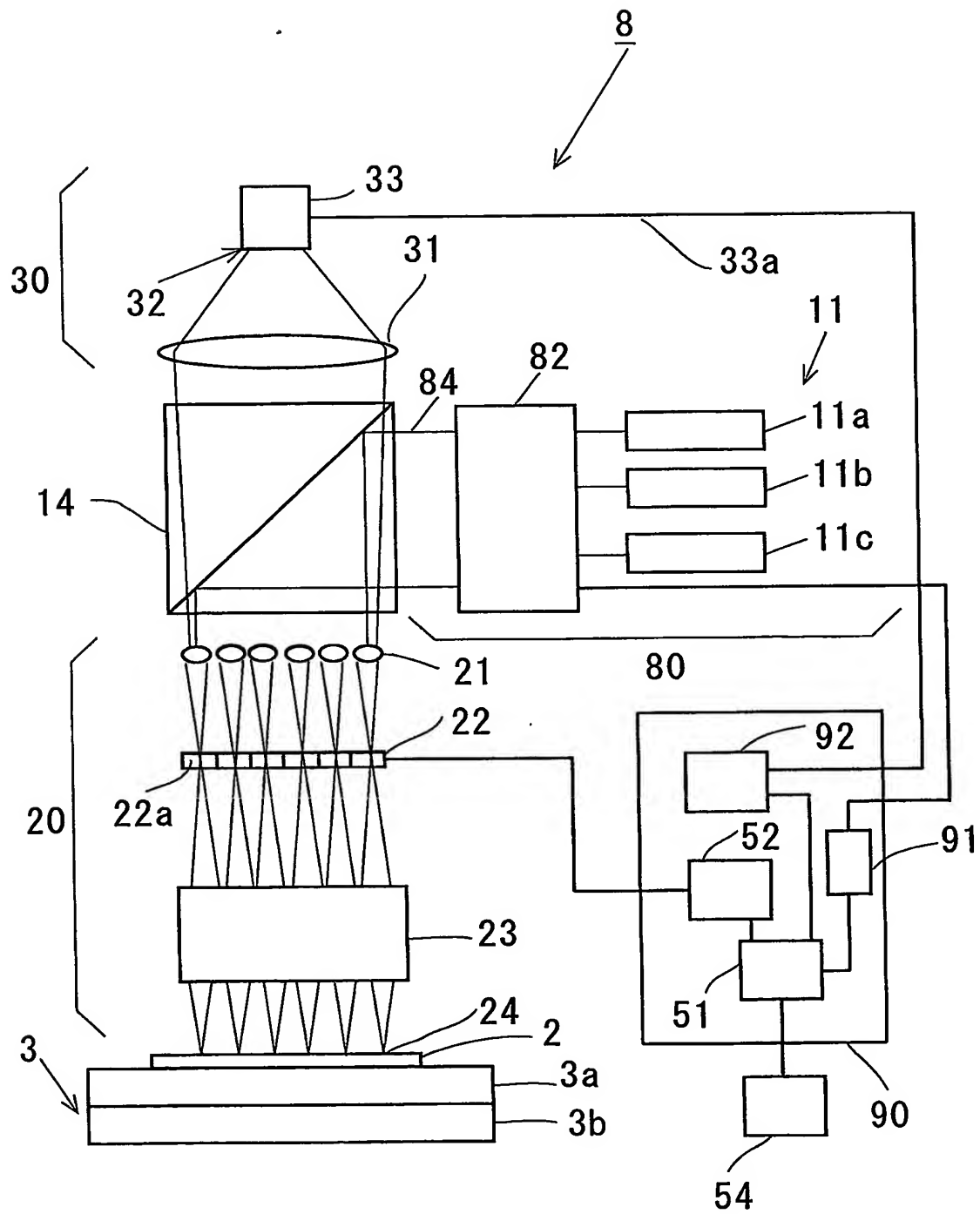


図 1 2

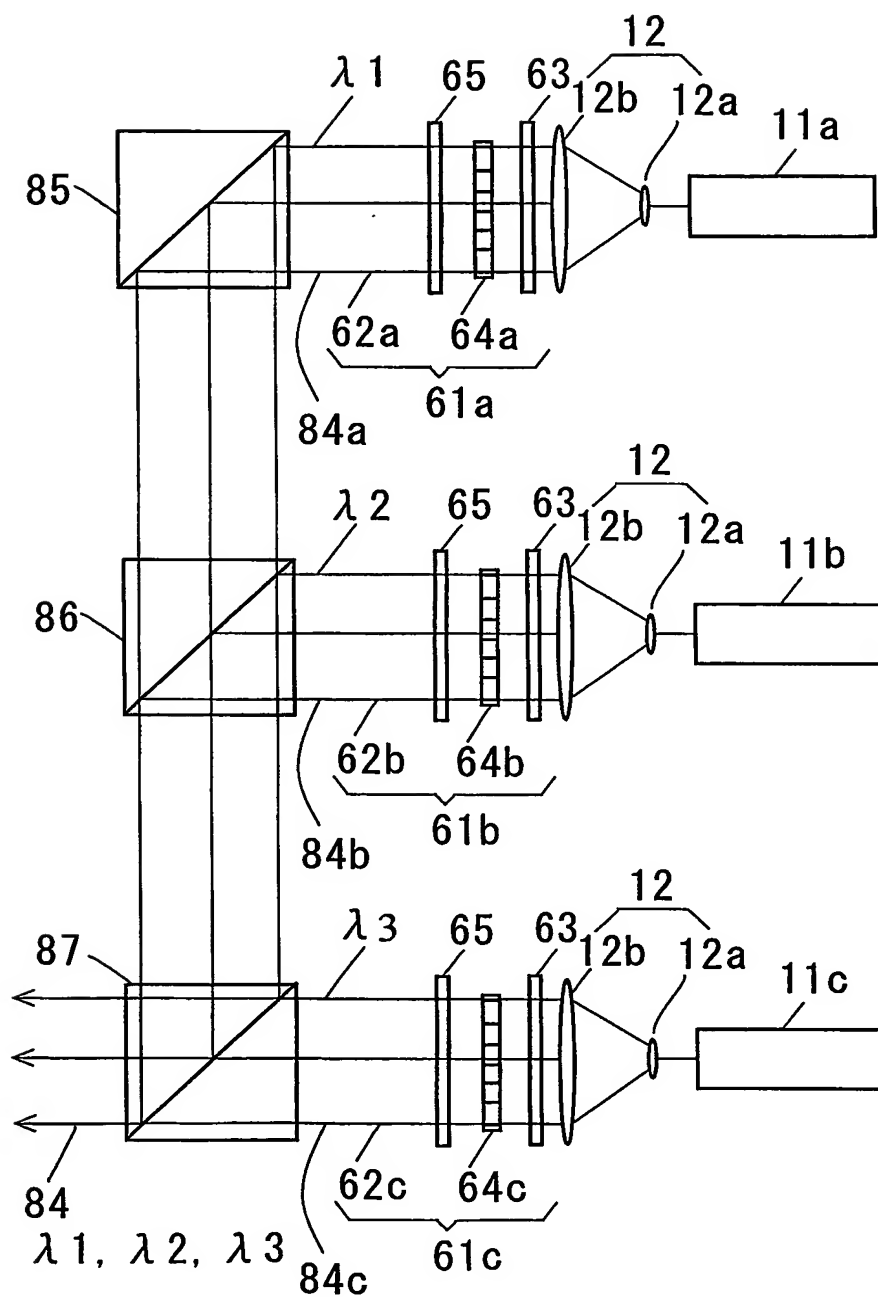


図 1 3

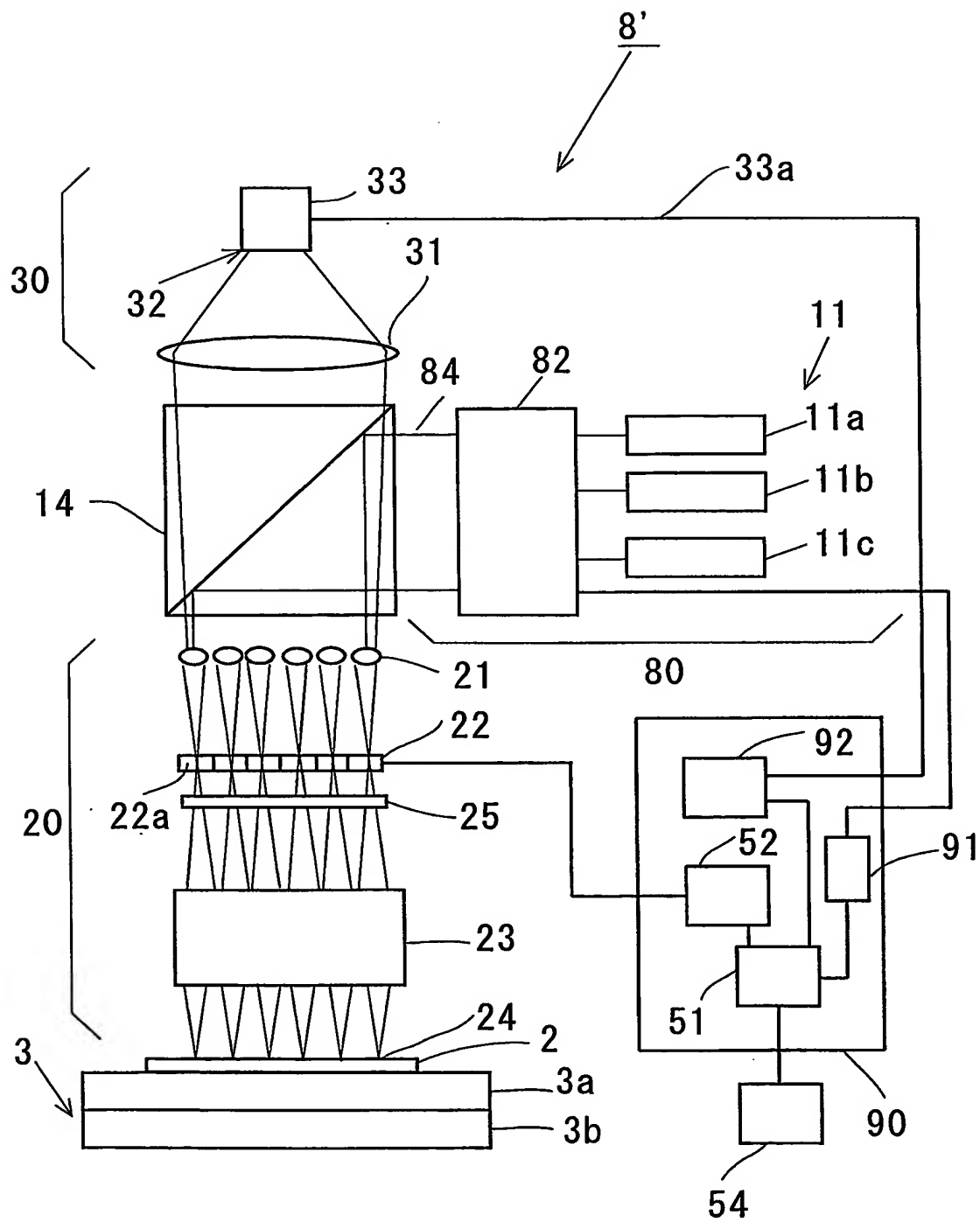


图 14

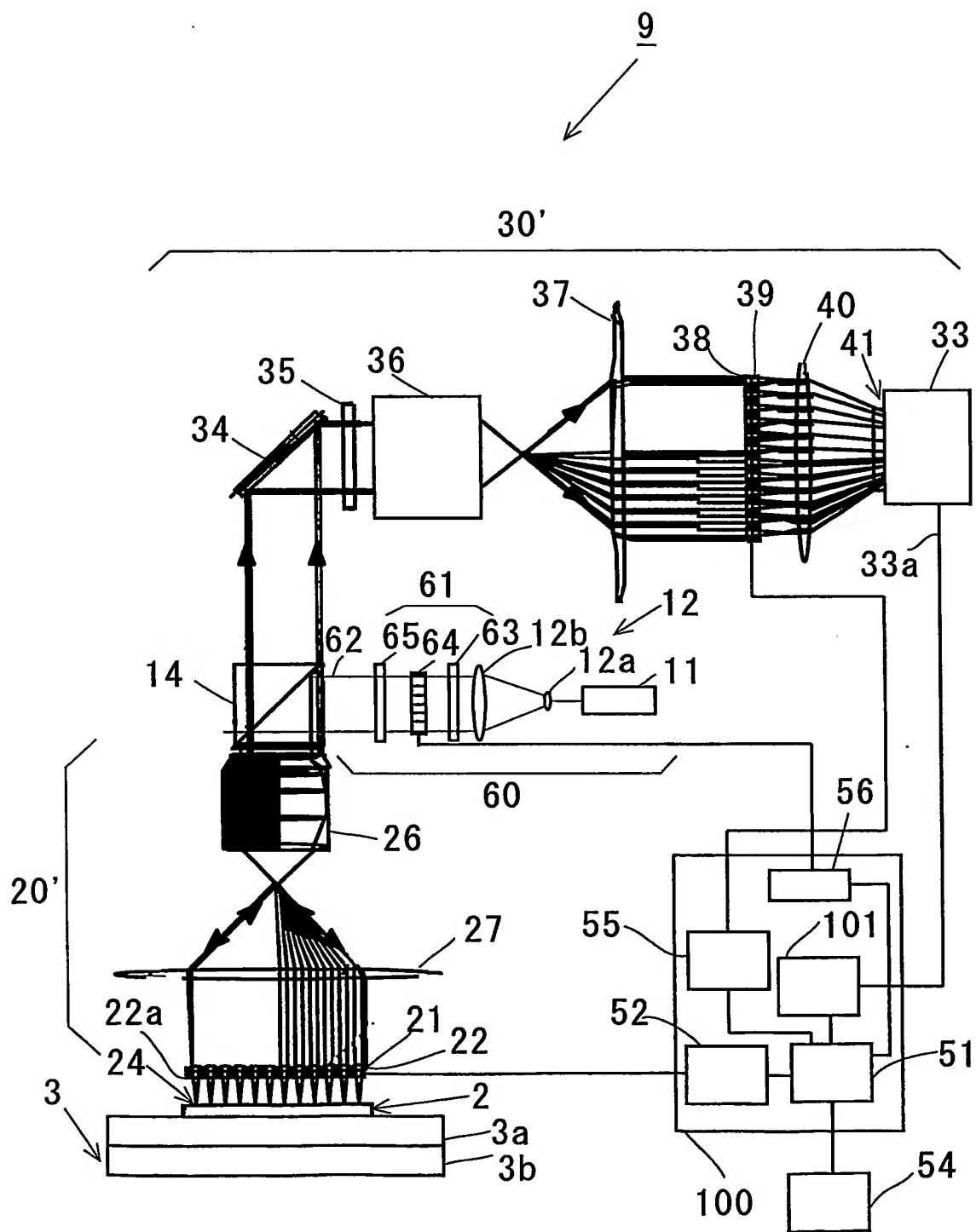


図 15

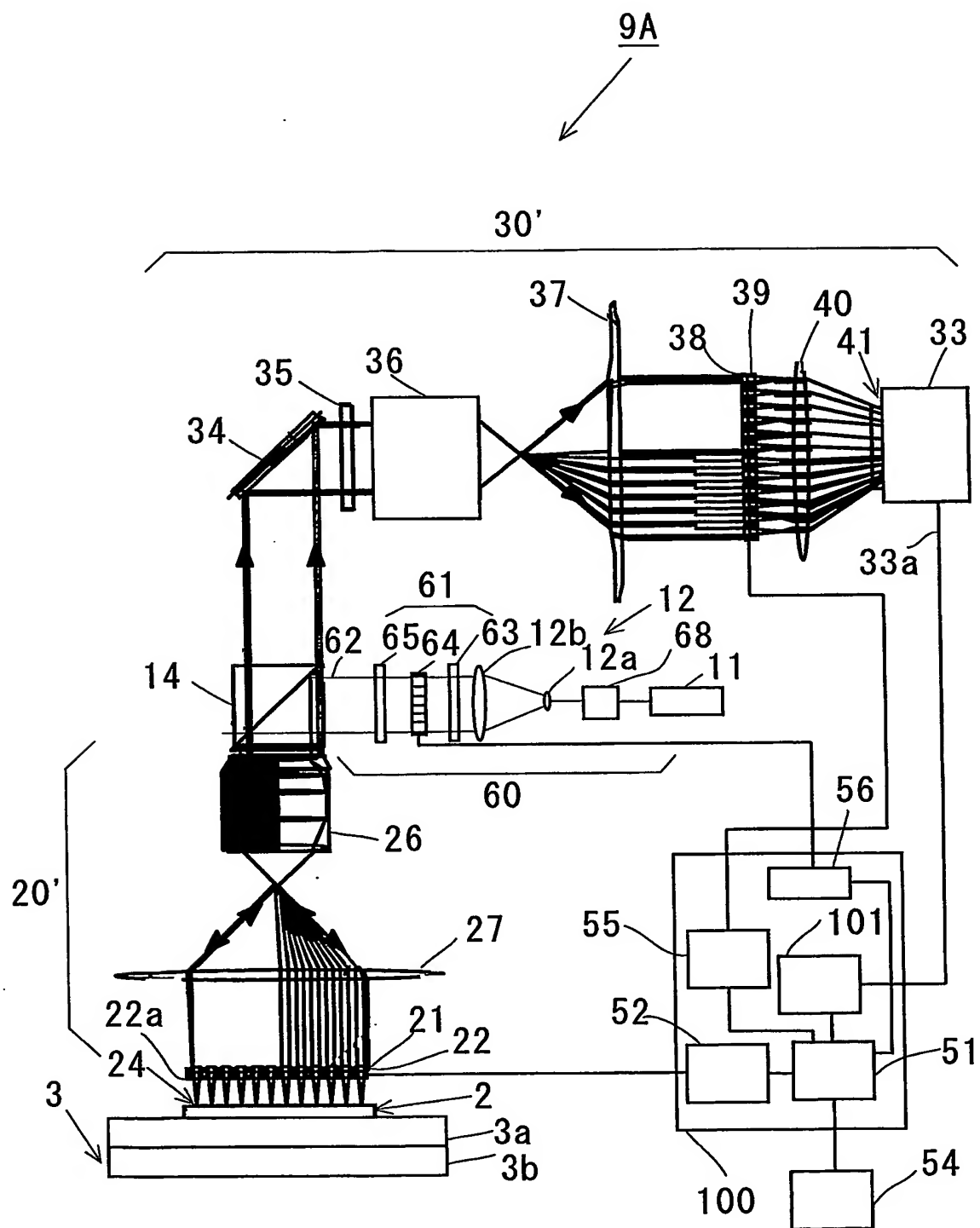


図 1 6

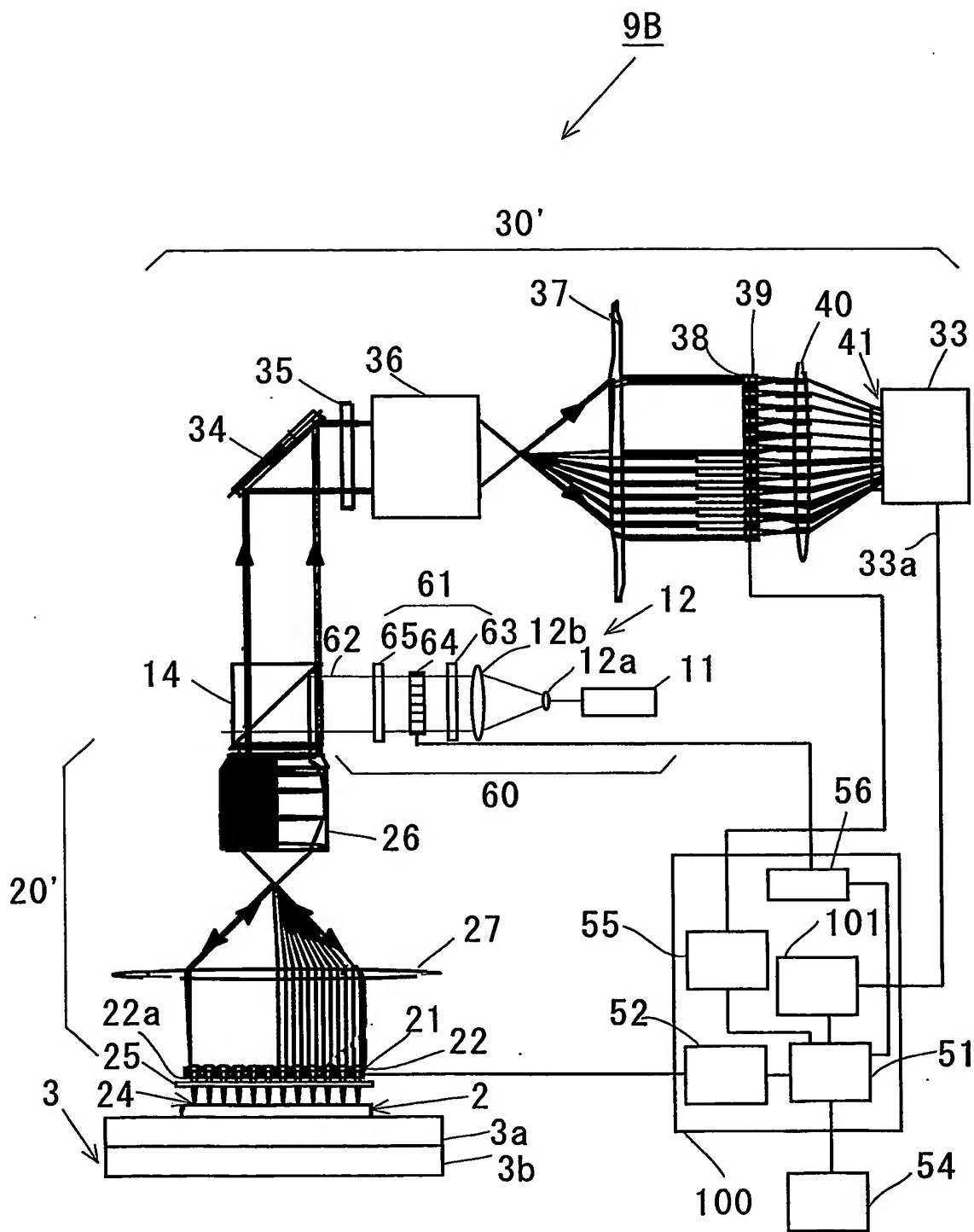


図 17

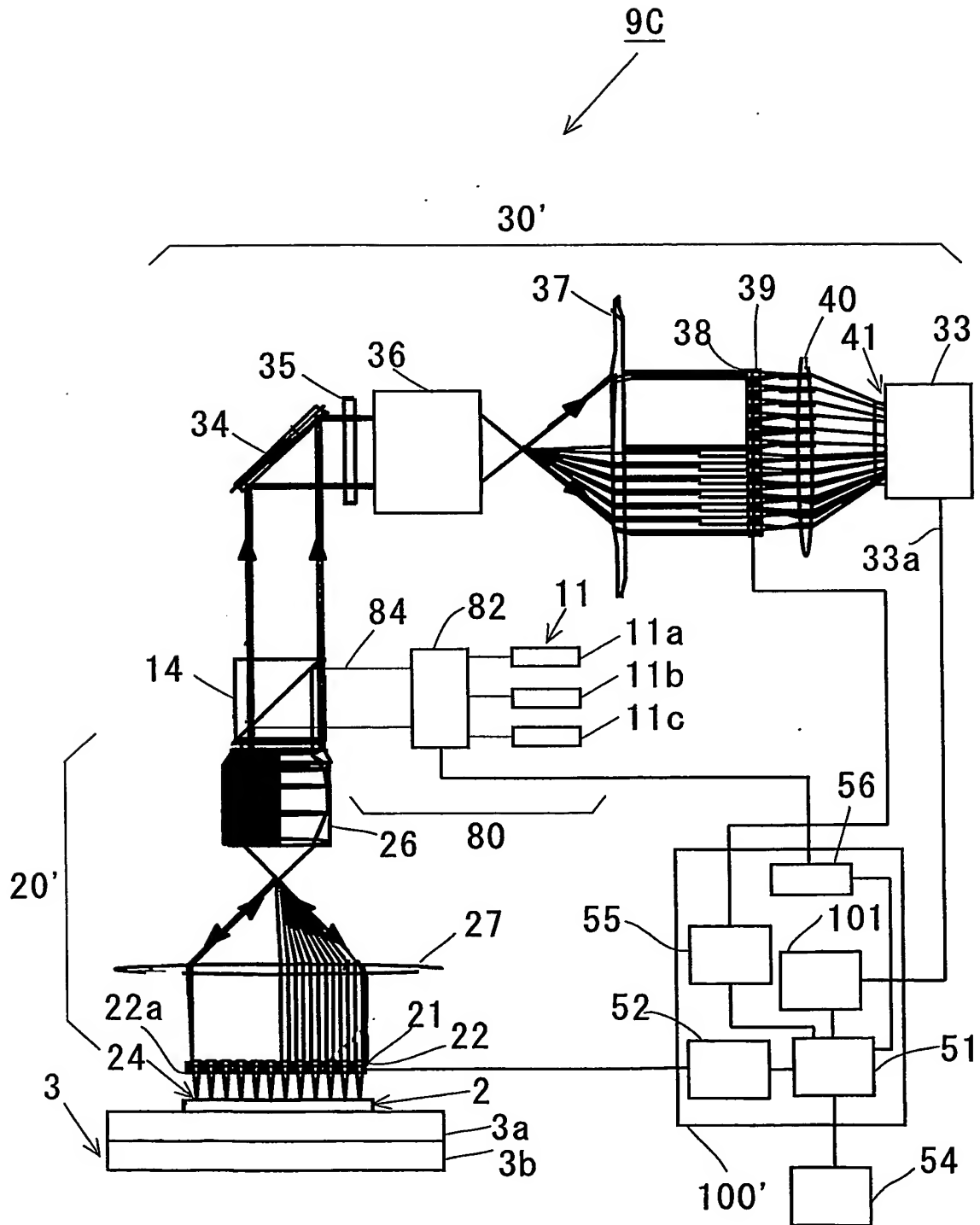


図 18

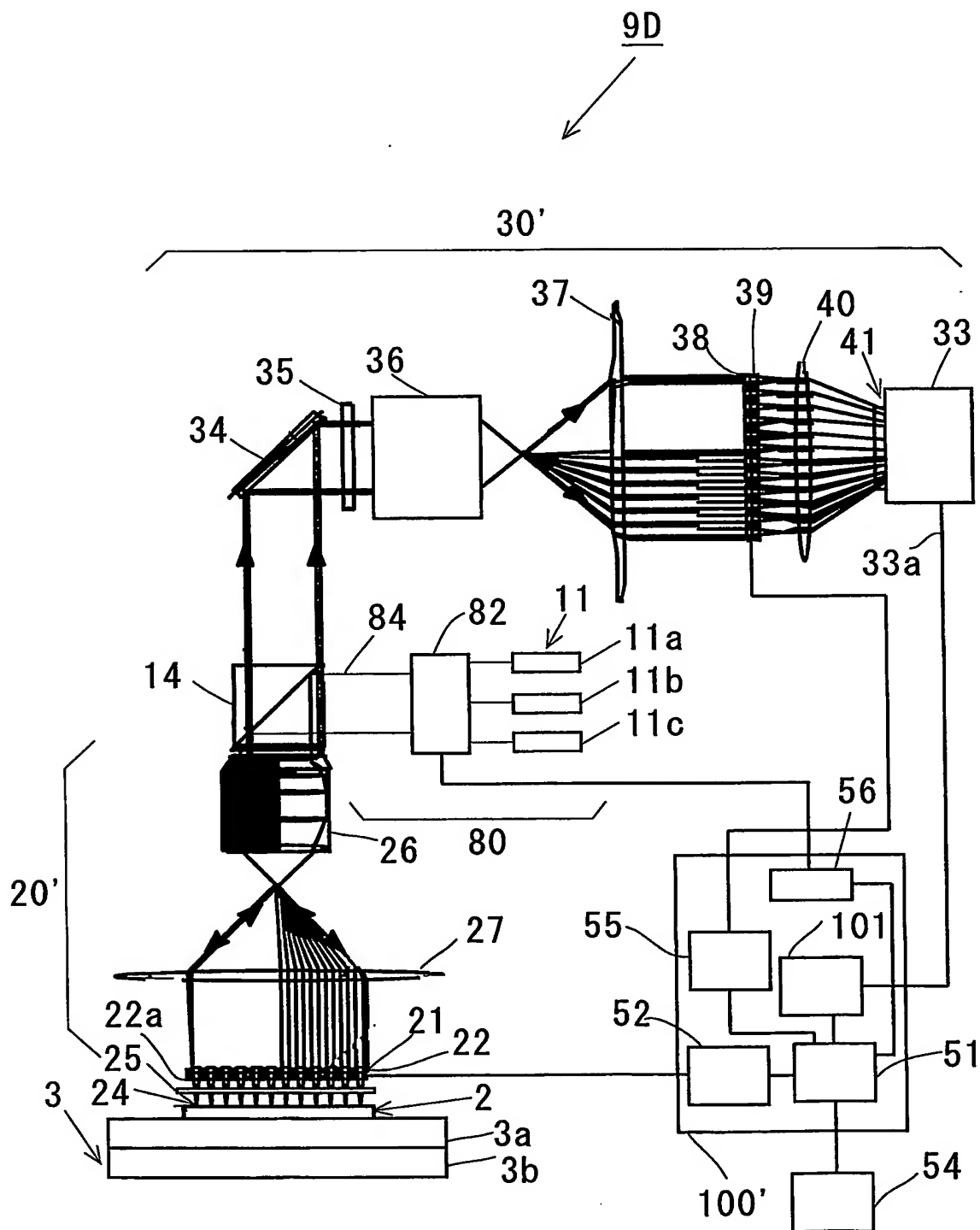


図 19

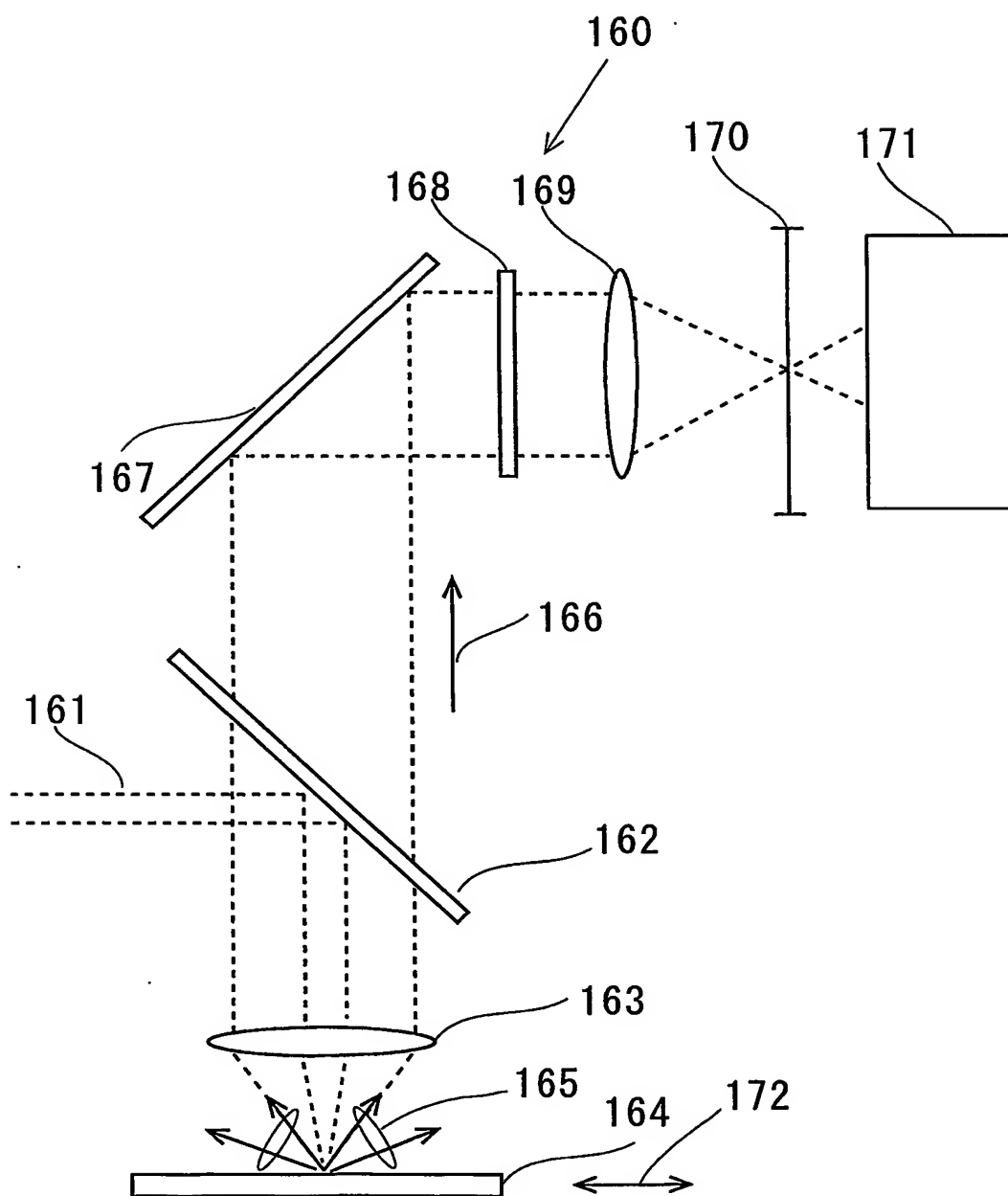


図 20

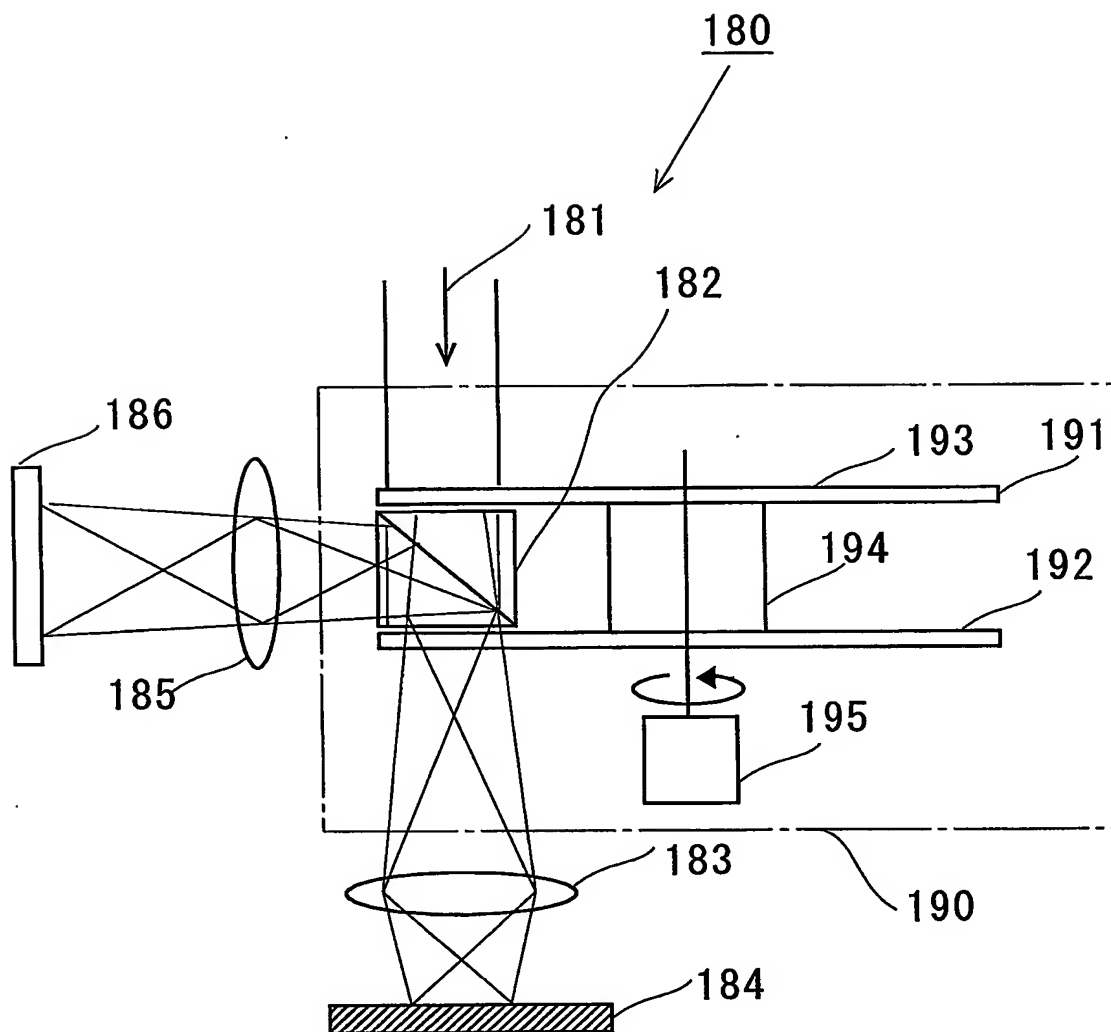
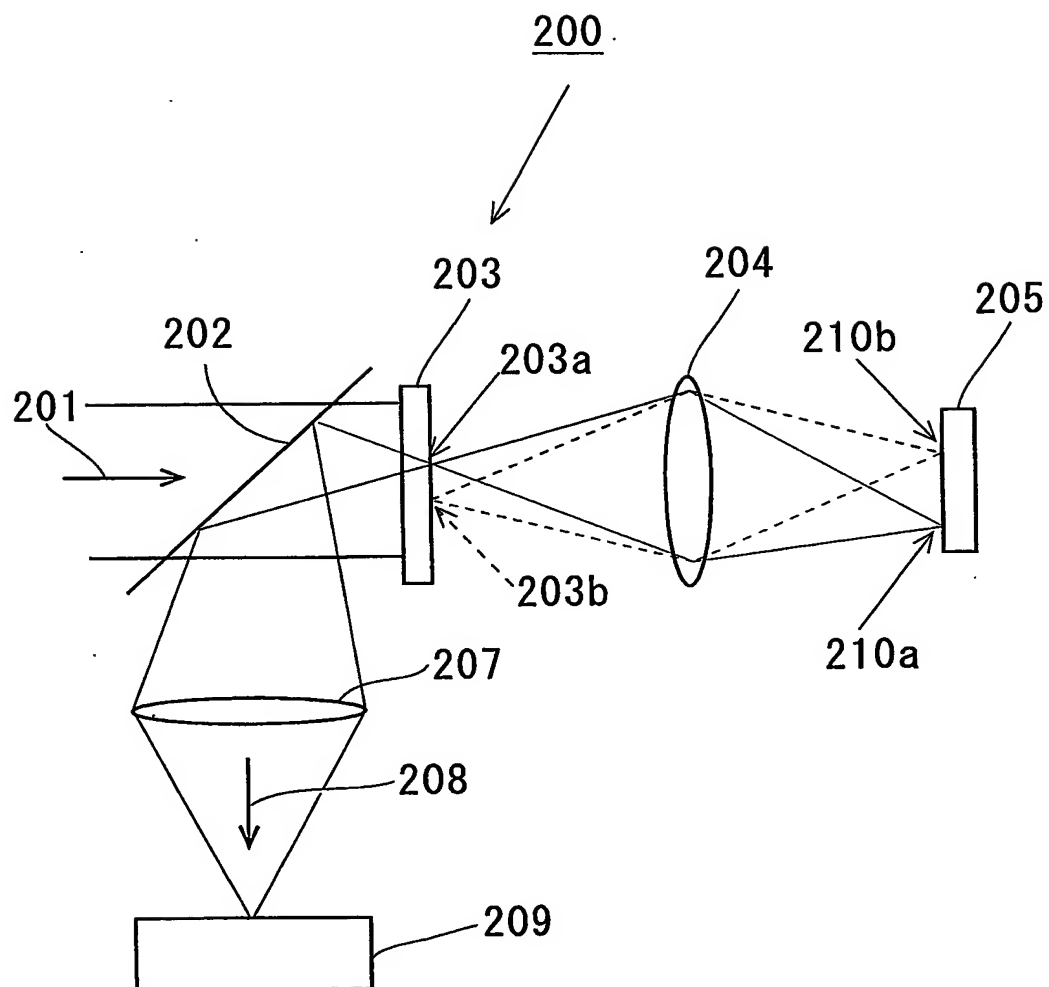


図 2 1



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/11935

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G02B21/00, G02B21/06, G01N37/00, C12N15/09

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ G02B19/00-21/00, G02B21/06-36

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2003
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2003	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	JP 10-318733 A (Takaoka Electric Mfg. Co., Ltd.), 04 December, 1998 (04.12.98), Full text; all drawings (Family: none)	1-2 3-6, 19-23 7-18
Y A	US 5248876 A (International Business Machines Corp.), 28 September, 1993 (28.09.93), Whole document & JP 6-94641 A	3-6 7-18
Y A	JP 7-181023 A (Komatsu Ltd.), 18 July, 1995 (18.07.95), Full text; all drawings (Family: none)	3-6 7-18

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
09 February, 2004 (09.02.04)Date of mailing of the international search report
02 March, 2004 (02.03.04)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/11935

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 2001-252986 A (Japan Science and Technology Corp.), 18 September, 2001 (18.09.01), Full text; all drawings (Family: none)	6, 22 8, 15
A	JP 02-16065 A (Fuji Photo Film Co., Ltd.), 19 January, 1990 (19.01.90), Full text; all drawings (Family: none)	1-23
Y	JP 2001-108684 A (Hitachi, Ltd.), 20 April, 2001 (20.04.01), Full text; all drawings (Family: none)	19-23

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G02B21/00, G02B21/06, G01N37/00, C12N15/09

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G02B19/00-21/00, G02B21/06-36

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1996年
 日本国公開実用新案公報 1971-2003年
 日本国登録実用新案公報 1994-2003年
 日本国実用新案登録公報 1996-2003年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y A	JP 10-318733 A (株式会社高岳製作所) 1998. 12.04, 全文全図 (ファミリーなし)	1-2 3-6, 19-23 7-18
Y A	US 5248876 A (International Business Machines Corp oration) 1993.09.28, whole document & JP 6-94641 A	3-6 7-18

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09.02.04

国際調査報告の発送日

02.3.2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

里村 利光

2V

9314

電話番号 03-3581-1101 内線 3271

C (続き). 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	J P 7-181023 A (株式会社小松製作所) 1995. 07. 18, 全文全図 (ファミリーなし)	3-6 7-18
Y A	J P 2001-252986 A (科学技術振興事業団) 2001. 09. 18, 全文全図 (ファミリーなし)	6, 22 8, 15
A	J P 02-16065 A (富士写真フイルム株式会社) 1990. 01. 19, 全文全図 (ファミリーなし)	1-23
Y	J P 2001-108684 A (株式会社日立製作所) 2001. 04. 20, 全文全図 (ファミリーなし)	19-23